NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

XPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

213. BAND

MIT 202 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1951

CATALOGUED
NOV 3 1952
D.C.B.

BOSTON
NOV 3 1952
MEDICAL LIBRARY

Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH
Printed in Germany.

Inhalt des 213. Bandes.

Seite

Alslev, J., und **M. Kiese,** Die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol auf den Sauerstoffverbrauch von Gewebsschnitten und Gewebsbrei. Mit 3 Textabbildungen 249

Bänder, A., s. **F. Heim.**

Berg, G., s. **A. Fleckenstein, J. Gayer** und **S. Schönig.**

Bornmann, G., Über die antikonvulsive Wirkung mehrwertiger Alkohole. Mit 1 Textabbildung. 114

Bruno, G., s. **F. Jung** und **W. Schoetensack.**

Burckhard, L., s. **F. Jung, W. Schoetensack** und **E. Mahler.**

Bucher, K., Über ein antispastisches Prinzip in Petasites officinalis Moench 69

Burger, H., und **W. Kunz,** Über die Abhängigkeit der Gewebsatmung des Endometrium vom Zyklus. Mit 3 Textabbildungen. 511

Credner, K., Pharmakologie eines halogenierten Antihistaminkörpers (Hibernon). Mit 2 Textabbildungen 473

Demling, L., und **H. Kinzlmeier,** Die Bedeutung der intrahepatischen Pfortaderäste für die Depotfunktion der Leber. Mit 9 Textabbildungen . . . 72

Doden, W., und **R. Kopf,** Über einen quantitativen Nachweis von 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil. Mit 3 Textabbild. 51

—, **R. Kopf** und **H. Specker,** Absorptionsmessungen an verschieden substituierten Thiouracilen nach Farbreaktion mit Grotes Reagens. Mit 2 Textabbildungen 467

Dost, F. H., Kann man dem Clearance-Begriff einen solchen der „Entrance" gegenüberstellen? Mit 3 Textabbildungen 435

Emmrich, R., H. J. Keutel und **A. Morgenstern,** Über den Ponndorf-Impfstoff und seine Wirkungsweise. Mit 5 Textabbildungen. 94

Fischer, R., und **J. Frey,** Über die Wirkung verschiedener Antihistaminica und von Novocain auf die Eiweißhyperergie der Ratte. Mit 1 Textabbild. 392

—, s. **L. Heilmeyer** und **J. Frey.**

Fleckenstein, A., G. Berg, J. Gayer und **S. Schönig,** Über die Dehydrasen-Hemmung durch Schlangengifte und die Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips durch antitoxische Sera. Mit 3 Textabbildungen . 265

—, und **W. Schneiter,** Weitere Untersuchungen über die Inaktivierbarkeit des dehydrasenhemmenden Prinzips in Bienengift und Schlangengiften durch Hitze und antitoxische Sera. Mit 3 Textabbildungen 537

Frey, J., s. **R. Fischer.**

—, s. **L. Heilmeyer** und **R. Fischer.**

Gayer, J., s. **A. Fleckenstein, G. Berg** und **S. Schönig.**

Seite

Ginzel, K. H., H. Klupp und **G. Werner,** Die Wirkung einiger aliphatischer α-ω-Bis-quarternärer Ammonium-Verbindungen auf die Skelettmuskulatur. Mit 10 Textabbildungen 453

Grupp, G., Zur Pharmakologie der Methylreduktinsäuren. Mit 4 Textabbildungen 199

Günther, H., s. **P. Seifert.**

Hann, J., s. **W. Schoetensack.**

Hartl, F., Der Cholesterinspiegel des Leichenblutes bei malignen Geschwülsten. Seine Beziehung zur Leberfunktion und zur Strahleneinwirkung. Mit 1 Textabbildung. 235

Heilmeyer, L., J. Frey und **R. Fischer,** Einwirkung von TB I (Conteben) auf die Eiweißhyperergie der Ratte. Mit 2 Textabbildungen 387

Heim, F., und **A. Bänder,** Der Einfluß mehrerer Antihistaminica auf die Vaguserregbarkeit. Mit 2 Textabbildungen 185

Helmreich, E., und **H. Nowy,** Untersuchungen über den Einfluß von Strophanthin auf die Gewebeatmung des Herzens. II. Mitteilung 411

—, s. **H. Nowy.**

Hergott, J., Über den Einfluß der kalziumarmen RINGER-Lösung auf pharmakologische Reaktionen des isolierten Froschherzens. Mit 3 Textabbild. 88

Heuwing, K., s. **F. Zinnitz.**

Hild, W., und **G. Zetler,** Über das Vorkommen der Hypophysenhinterlappenhormone im Zwischenhirn. Mit 7 Textabbildungen 139

Hotovy, R., und **W. König,** Weitere pharmakologische Studien an der Kaumuskulatur der Ratte. Mit 4 Textabbildungen 175

Hug, O., und **W. Lippert,** Grenzschichten animalischer Zellen im Elektronenmikroskop. Mit 7 Textabbildungen 395

Jung, F., W. Schoetensack und **G. Bruno,** Synthetische Azulene I (Prüfungsverfahren). Mit 2 Textabbildungen 1

—, **W. Schoetensack, E. Mahler** und **L. Burckhard,** Synthetische Azulene II. (Physiologische Wirkungen.) Mit 4 Textabbildungen 255

Keibl, E., und **K. H. Spitzy,** Zum Problem des Leukozytenstoffwechsels. 1. Mitteilung: Atmung und Glykolyse normaler und leukämischer weißer Blutzellen. Mit 1 Textabbildung. 162

— —, Zum Problem des Leukozytenstoffwechsels. 2. Mitteilung: Einfluß von Röntgenstrahlen, Urethan und Colchizin auf den Stoffwechsel myeloisch-leukämischer Zellen. Mit 2 Textabbildungen 365

Keutel, H. J., s. **R. Emmrich** und **A. Morgenstern.**

Kewitz, H., Untersuchungen über Papaverin-Karbonsäure. Mit 4 Textabb. 30

—, Ausscheidung des Bernsteinsäureesters des Pentaerythrittrijodhydrins bei der Ratte. Mit 1 Textabbildung 111

Kiese, M., und **H.-D. Waller,** Die Reduktion des Hämiglobins. VII. Mitteilung: Die Reduktion von Hämiglobin und Sauerstoff durch reversibel reduzierbare Farbstoffe in roten Zellen. Mit 3 Textabbildungen 44

—, und **K. Ranniger,** 1-Alkoxy-2-amino-4-nitrobenzole. II. Mit 3 Textabb. 121

—, und **A. v. Ruckteschell,** Kinetik der Hämiglobinbildung. XI. Die katalytische Wirkung des Hämoglobins auf die Oxydation von Phenylhydroxylamin durch Sauerstoff. Mit 7 Textabbildungen 128

—, s. **J. Alslev.**

Kinzlmeier, H., s. **L. Demling.**

Seite

Klein, H., s. **W. Riechert.**

Klobusitzky, D. v., Gerinnungsfördernde Wirkung hämostatischer Bothropsgift-Präparate 361

Klupp, H., s. **K. H. Ginzel** und **G. Werner.**

Koch, R., Zur Pharmakologie des „Dioxypyramidon". Mit 2 Textabbildungen 501

König, W., s. **R. Hotovy.**

Kopf, R., s. **W. Doden.**

—, s. **W. Doden** und **H. Specker.**

Kracht, J., und **U. Kracht,** Zum histochemischen Peroxydasenachweis in der Schilddrüse unter normalen und pathologischen Bedingungen . . . 429

Kracht, U., s. **J. Kracht.**

Krause, D., Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Novocains und Pantocains bei intravenöser Injektion. Mit 6 Textabbildungen 516

Kunz, W., s. **H. Burger.**

Lendle, L., und **H. Wienke,** Zur Frage der Sensibilisierung von Vaguswirkungen auf die Herzfrequenz durch Digitalis 373

Lippert, W., s. **O. Hug.**

Ludwigs, N., und **K. Wiemers,** Über lokalanästhetische Wirkungen aralkylierter Sympathikomimetika der Adrenalin-Benzedrinreihe. (IV. Mitteilung über Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe.) Mit 2 Textabbild. 355

Mahler, E., s. **F. Jung, W. Schoetensack** und **L. Burckhard.**

Meyer, A. E., Die Wirkung von Cytochrom, Adenosin-5-monophosphat, Adenosintriphosphat und Adrenalin auf Schlagvolumen und Frequenz des Froschherzens. Mit 3 Textabbildungen 154

Morgenstern, A., s. **R. Emmrich** und **H. J. Keutel.**

Neumann, W., und **A. Stracke,** Untersuchungen mit Bienengift und Histamin an der Formaldehydarthritis der Ratte. Mit 4 Textabbildungen 8

Nowy, H., und **E. Helmreich,** Unterschiede der Gewebeatmung verschiedener Abschnitte des Rattenherzens 402

—, s. **E. Helmreich.**

Ranniger, K., s. **M. Kiese.**

Riechert, W., Über die antikonvulsive Wirkung des Gynergens 82

—, und **H. Klein,** Zur Beeinflussung der Ödemphase der Hühnereiweißentzündung der Ratte durch Ergotamin, Dihydroergotamin (DHE) und Hydergin (CCK) 425

Ruckteschell, A. v., s. **M. Kiese.**

Seifert, P., und **H. Günther,** Alkoholintoxikation und Atemalkohol. Mit 1 Textabbildung 37

Schoetensack, W., und **J. Hann,** Zur Wirkung der Narkotika auf die Blutdruckregulation und zur Differenzierung zwischen Schlaf und Narkose (nach Untersuchungen beim Elektrokrampf). Mit 3 Textabbildungen . 102

—, s. **F. Jung** und **G. Bruno.**

—, s. **F. Jung, E. Mahler** und **L. Burckhard.**

Schneiter, W., s. **A. Fleckenstein.**

Schönig, S., s. **A. Fleckenstein, G. Berg** und **J. Gayer.**

Specker, H., s. **W. Doden** und **R. Kopf.**

Spitzy, K. H., s. **E. Keibl.**

Seite

Stracke, A., s. **W. Neumann.**

Unna, K., Pharmakologische Untersuchungen über neue Sympatolabkömmlinge. Mit 18 Textabbildungen 207

Waller, H.-D., s. **M. Kiese.**

Werner, G., s. **K. H. Gringel** und **H. Klupp.**

Wick, H., Pharmakologie des Buscopan. Mit 8 Textabbildungen 485

Wiemers, K., Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe. I. Mitteilung: Die Blutdruckwirkung. Mit 12 Textabbildungen 283

—, Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe. II. Mitteilung: Analyse der peripheren Kreislaufwirkungen. Mit 14 Textabbild. 314

—, Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe. III. Mitteilung: Allgemeine pharmakologische Untersuchungen. Mit 5 Textabb. 335

—, s. **N. Ludwigs.**

Wienke, H., s. **L. Lendle.**

Zetler, G., Über die beschleunigende Wirkung des Histamins auf die Blutgerinnung und ihre Beeinflussung durch Antihistaminika. Mit 3 Textabb. 18

—, Über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf das Sauerstoffbedürfnis des isolierten Uterus der Maus (unter Berücksichtigung des sexuellen Zyklus). Mit 7 Textabbildungen 189

—, Modellversuche über die adsorptive Verdrängung als mögliche Teilursache der typischen Antihistaminwirkung. Mit 2 Textabbildungen . . 551

—, s. **W. Hild.**

Zinnitz, F., und **K. Heuwing,** Über die pharmakologische Wirkung von 3-tert.-Butylamino-acrolein. Mit 6 Textabbildungen 59

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 1—7 (1951).

Aus den Pharmakologischen Instituten der Universität Würzburg und der Humboldt-Universität zu Berlin, sowie dem Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Synthetische Azulene I.

(Prüfungsverfahren)

Von

F. Jung, W. Schoetensack und G. Bruno.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. November 1950.)

Im Anschluß an synthetische Arbeiten von H. Arnold auf dem Gebiet der Azulenchemie trat an uns die Frage der pharmakologischen Prüfung einer Reihe neu hergestellter synthetischer Azulene heran. Auswertungsverfahren für antiphlogistische Zubereitungen haben hierzu Heubner und Grabe[1], ferner Neuwaldt[2] sowie Albath[3] und Pommer[4] angegeben, doch erlaubt keines die Festlegung der Wirksamkeit als Zahl. Für einen Vergleich wäre das aber zu wünschen.

In eigenen Versuchen prüften wir zunächst eine Reihe von Testmöglichkeiten auf ihre Eignung. Aus der Methode von Heubner und Grabe war es möglich, ein halbquantitatives Auswertungsverfahren abzuleiten, welches unten beschrieben wird. Schließlich seien eine Reihe von Versuchen angefügt, in welchen wir nach geeigneten Zubereitungsformen unserer meist völlig wasserunlöslichen Azulenderivate suchten.

I. Auswertungsverfahren verschiedener Art.

1. Strahlendermatitis der menschlichen Haut: Mit Hilfe einer Quarzanalysenlampe wurde auf der Volarfläche des Unterarmes eine Serie fleckförmiger UV-Dermatitiden erzeugt. Im einzelnen hielten wir uns an die von Albath angegebene Technik. Weder bei Versuchen mit sicher wirksamen Azulenen wie Chamazulen oder A 18 (1-Isopropyl-5-Methylazulen = „Synthazulol" Homburg) noch sonst ergaben sich eindeutig auswertbare Differenzen zwischen Azulen-behandelten Herden und Kontrollen.

2. Ritzwunden der menschlichen Haut: Heubner hat ein Verfahren zur Prüfung entzündungserregender Substanzen angegeben, bei welchem eine kleine Menge des zu prüfenden Stoffes auf eine kreuzförmige Ritzwunde der menschlichen Haut gegeben wird. Unbehandelte Stellen zeigten in unseren Versuchen nach einigen Stunden geringgradige Entzündungserscheinungen und heilten innerhalb von 2 Tagen wieder ab. Wirksames Azulen (A 18) besitzt geringfügige, doch deutliche, lokale Reizwirkungen. Die kräftige Blaufärbung durch das Azulen erschwert die Beurteilung der Reaktion ganz erheblich, möglicherweise sind unter Azulen die Reizwirkungen nach 2—3 Std etwas geringfügiger. Nach zusätzlicher Reizung der Ritzstelle mit Xylol war das Ergebnis nicht günstiger.

3. Auswertung am Fledermausflügel: Dieses von E. Mahler vorgeschlagene Objekt scheint zur Beurteilung entzündungserregender Stoffe sehr geeignet, da man bei ihm das Gefäßsystem der Haut besonders gut beobachten kann. Eindeutige Wirkungen einer Entzündungshemmung nach Toluolreizung konnten wir nicht feststellen.

4. Kapillartest an der Froschhaut und am Froschmesenterium: Keine einwandfreie Azulenwirkung nachweisbar.

5. Verfahren von Heubner und Grabe: 15 Kaninchen erhielten im Abstand von je 2 min 2mal einen Tropfen 50%iges Allylsenföl in den Bindehautsack. *Direkt anschließend* wurde alle 15 min in das eine Auge A 18, in das andere eine Kontrollemulsion gegeben. Nach 3 Std wurde die Behandlung *abgeschlossen* und der weitere Verlauf verfolgt.

In den ersten Tagen war die Heilungstendenz auf der Azulen-behandelten Seite eindeutig günstiger. Da aber die Tiere laufend in ihren Augen kratzten und so neue Verletzungen und Infekte setzten, verwischte sich der Unterschied namentlich bei den lebhafteren Tieren allmählich. — Der Versuch ergab somit ein positives Ergebnis zugunsten des geprüften Azulens, erlaubte aber keine zahlenmäßige Auswertung. Ein Versuch, das Verfahren auf Mäuseaugen zu übertragen, scheiterte.

II. Eigene Auswertungstechnik.

Die gewünschte Zahl „Wirksamkeit des Azulens" sollte als statistische Maßzahl an einer möglichst umfangreichen statistischen Masse gewonnen werden:

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen. Diesen wurde im Verlauf von 2 Tagen 4mal 50%iges Allylsenföl in die Augen gegeben. Am 3. Tage wurden die Tiere begutachtet und diejenigen ausgeschieden, bei welchen erhebliche Differenzen der entzündlichen Reaktion zwischen beiden Augen aufgetreten waren. War die Entzündung zu geringfügig, so wurde weiter Senföl — unter Umständen auch unverdünnt — nachgegeben. Albinotische Tiere waren empfindlicher als dunkelfarbige. Bei Wiederholung der Testung am selben Tier stieg die Resistenz an, so daß jedes Tier nur für eine beschränkte Anzahl von Versuchen tauglich war. Die Beurteilung der Augen erfolgte unter einem binokularen Präpariermikroskop. Es wurden 5 Veränderungsgruppen eingeteilt: Lidrand, Conjunctiva palpebralis, C. cornealis, Kornea und Sekretion. Für den Zustand in jeder Gruppe wurden erst 3. später 6 Punkte = Reaktionsgrade angegeben. Die 5 Werte für jedes Auge wurden addiert. Der Maximalwert von 3mal 5 Punkten entsprach etwa einem Zustand, bei welchem durch die geschwollenen Lider und infolge des eitrigen Sekrets die ebenfalls schwer veränderte Kornea nicht mehr direkt gesehen werden konnte.

Nach Feststellung des Ausgangsbefundes setzte am 3. Tage die Behandlung ein. Das Azulen wurde in der Regel in das rechte Auge gegeben, während in das linke eine Kontrollzubereitung kam. Im allgemeinen wurde 6mal täglich ein Tropfen appliziert — bis zum Eintritt vollständiger Heilung. Dies dauert im Durchschnitt 10 Tage. Der Tagesbefund wurde vor Einsetzen der täglichen Behandlung notiert.

Die Tiere wurden in Gruppen zu je 10 in geräumigen Käfigen gehalten. Der Versuchsraum war geheizt. In der Vorperiode ist gründliche Lüftung wegen des Senföldunstes notwendig. Die Behandlung mit Senföl wurde daher meist im Freien vorgenommen.

Die Auswertung des Zahlenmaterials erfolgt auf zwei verschiedene Arten:

1. Für jedes Tier wurden die täglichen Entzündungswerte durch zwei unabhängige Beobachter festgestellt, deren Werte gemittelt und diese Mittel für jedes

Auge getrennt unter Weglassung des Ausgangswertes addiert. Die Summe wurde dann durch den Ausgangswert dividiert und mit 10 multipliziert (Normierung auf einen Ausgangswert 10). Die Differenz zwischen rechtem und linkem Auge gibt den „Heilerfolg". Dieser wurde noch durch die Zahl der Behandlungstage dividiert: „Durchschnittlicher täglicher Heilerfolg am Einzeltier." Sein Mittelwert und seine Streuung bei einer möglichst großen Tierzahl diente dann als Maßzahlen für die *Wirksamkeit* des geprüften Azulens.

2. Gelegentlich interessierte der zeitliche Ablauf der Azulenwirkung. Bei gewissen Azulenkarbonsäuren war z. B. zu Behandlungsbeginn ein eindeutig positives Ergebnis vorhanden, welches im Zug der Weiterbehandlung wieder verschwand. — In solchen Fällen wurden bereits die einzelnen Tageswerte unter Verwendung des Ausgangswertes normiert. Dann kann für jedes Tier und jeden Tag der tägliche Heilerfolg berechnet und für einen bestimmten Versuchstag das Mittel über alle Tiere genommen werden. Auf diese Weise ergibt sich die „Wirksamkeit bis zu einem bestimmten Tag". Die Gesamtwirksamkeit des Azulens wird durch Mittelung über alle Versuchstage erhalten.

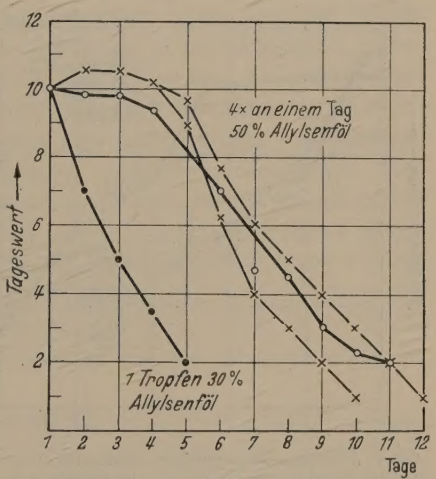


Abb. 1. Ablauf und Reproduzierbarkeit der Senfölentzündung am Meerschweinchenauge. Jede Kurve ist eine Mittelwertskurve von 20 Tieren. Der Ausgangswert der Entzündung ist jeweils auf 10 normiert (vgl. Text).

Da bei den beiden Berechenverfahren das Gewicht der Einzelwerte im Zug der Behandlung nicht dasselbe ist, sind die Mittelwerte nicht ganz identisch. Praktisch stimmten sie stets überein. — Werden für den Einzelversuch 20 Tiere verwandt und beträgt die Versuchsdauer 10 Tage, so liegen der „Wirksamkeit" bei Beobachtung durch zwei unabhängige Personen und Anwendung der oben erwähnten 5 Veränderungsgruppen 2000 Einzelwerte zugrunde. Trotzdem ist die Streuung des Mittelwertes recht groß. Immerhin war sie gelegentlich — bei demselben Versuchsleiter — auffallend konstant. Da unbewußte Korrekturen zugunsten oder ungunsten eines Azulens durch den Beobachter zu Veränderungen der Streuung führen müssen, haben wir diese Konstanz als Hinweis auf die Reellität unseres Verfahrens angesehen. Grundsätzlich kannte weder der Versuchsleiter noch der Beobachter die Natur des unter Deckbezeichnung (A 1 bis A x) gelieferten Präparates, bekannt war lediglich, daß sowohl sicher wirksame (Chamazulen), wie sicher unwirksame (Sudanblau in Paraffinöl) Produkte zur Ablieferung kamen und unter Umständen auch dieselbe Substanz unter anderer Bezeichnung wiederholt auftauchen konnte.

III. Versuchsergebnis allgemeiner Art.

a) Die Senfölreaktion des Meerschweinchenauges als pharmakologisches Testobjekt: Einige Angaben über den Verlauf einer unbeeinflußten Senfölreaktion gibt Abb. 1. Die anfangs von uns gewählte Versuchsanordnung

unter Einträufelung von 1 Tropfen 30%igem Senföl gibt nur eine relativ kurzfristige Reaktion. Bei dem oben beschriebenen späteren Verfahren erhält man dagegen eine etwa 3—4 Tage nach Behandlungsschluß anhaltende kräftige Entzündung, welche dann zwischen 5. und 8. Tage schnell schwindet. Die Abb. 1 zeigt, daß bei Normierung auf einen einheitlichen Ausgangswert und Verwendung eines nicht zu kleinen Tierkollektivs die Abklingkurven gut reproduzierbar sind. Bei unserer Azulenauswertung liegen die Verhältnisse natürlich noch günstiger, da hierbei rechtes und linkes Auge desselben Tieres gegenübergestellt werden.

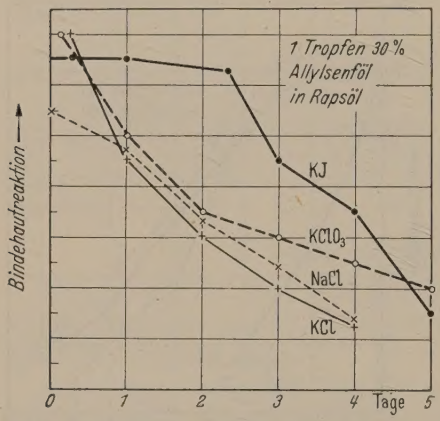


Abb. 2. Abklingen der Bindehautreaktion bei einer Senfölentzündung unter laufender Behandlung mit verschiedenen Salzlösungen. Ordinate: Reaktion in willkürlichen Einheiten (vgl. Text).

b) Beeinflußbarkeit der Senfölentzündung durch das Ionenmilieu: In Abb. 2 ist ein Ausschnitt aus einer Versuchsserie wiedergegeben, in welcher die Abheilkurven unter laufender Behandlung mit verschiedenen isotonischen Lösungen verfolgt wurden. Insgesamt wurde geprüft: KCl, NaCl, KJ, $KClO_3$, $NaClO_3$ und $KClO_4$. Die Abheilung zeigte bei KCl, NaCl und $KClO_4$ keine erheblichen Differenzen. Unter KJ und auch den beiden Chloraten war sie dagegen verlangsamt — wohl ein Effekt der Stellung dieser Salze in der Hofmeisterschen Ionenreihe. In sämtlichen Azulenversuchen haben wir daraufhin physiologische Kochsalzlösung als Milieu gewählt.

c) Antiphlogistische Wirkung und Zubereitungsform: Während in Kamillenzubereitungen oder gar alkoholischen Lösungen das Azulen in wohl definierter Konzentration vorliegt, auf welche seine Wirkung bezogen werden kann, sind bei Emulsionen die Verhältnisse nicht so einfach. Wir haben bei solchen, solange Azulenphase vorhanden ist, in der Außenphase eine konstante, wenn auch sehr geringe Azulenkonzentration. Geht die Wirkung des Azulen über den gelösten Anteil, so wird sie daher von der emulgierten Menge bzw. von der Gesamt-Azulenkonzentration weitgehend unabhängig sein. Dagegen wird eine Abhängigkeit vom Verteilungsgrad und sonstigen Zustand der Tröpfchen eintreten (Einfluß der Lösungsgeschwindigkeit). Verbindet sich dagegen die Azulenwirkung mit den Tröpfchen, so wird neben diesen Faktoren auch die Gesamtzahl der Tröpfchen eine wesentliche Rolle spielen, d. h. die Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung wird größer.

Die von uns als „Wirksamkeit" bezeichnete Eigenschaft eines bestimmten Azulens ist daher eine sehr komplexe Größe, welche nicht nur den primären antiphlogistischen Effekt, sondern eine ganze Reihe kaum zu umreißender physikochemischer Faktoren enthält. Unwirksamkeit eines Azulens — etwa des Grund-

oder Vetivazulens — braucht somit noch nicht Fehlen der primären Wirksamkeit zu bedeuten, sondern kann sehr wohl sekundär durch besondere Lösungs- und Emulgierungseigenschaften zustande kommen. Aus diesem Grund wäre die Auffindung einer Zubereitungsform, in welcher alle Azulene ihre idealen Wirkungsbedingungen erhalten — etwa eine möglichst gleichmäßige und feine Verteilung — erwünscht.

Versuche zu diesem Problem haben wir mit einem sicher wirksamen Produkt, dem 1-Isopropyl-5-methylazulen (oder A 18) durchgeführt.

1. *Verwendung eines Lösungsvermittlers:* Relativ klare, wenn auch nicht sehr konzentrierte wäßrige Azulenlösungen lassen sich mit Gallensäuren (Desoxycholsäure) erhalten. Prüfungen dieser Lösungen haben wir nicht durchgeführt, da sie wenig haltbar waren. Aussichtsreicher schienen uns Versuche mit einem als „Tween" bezeichneten Produkt der *Atlas* Powder Company. Es handelt sich dabei um eine von KRANTZ[5] auf ihre pharmakologischen Wirkungen eingehend untersuchte Verbindungsgruppe. Zur Verfügung stand uns Tween 60 (Polyoxyäthylen-sorbitan-monostearat) und Tween 80 (Polyoxyäthylen-sorbitan-monooleat), beides Produkte von sehr geringer Toxizität. In einem Vorversuch wurde geprüft, ob durch 1%ige Tweenlösungen in physiologischer Kochsalzlösung der Entzündungsablauf beeinflußt wird. Wie das in der Tabelle wiedergegebene Ergebnis zeigt, ist das Produkt völlig indifferent.

Tween 60 (wie 80) vermag A 18 zu tiefblauer, *klarer*, wäßriger Lösung zu bringen. Wir haben diese blauen Lösungen später für unsere Stoffwechselversuche angewandt, da sich in dieser Form das Azulen in größeren Mengen und sehr feiner Verteilung intravenös wie intraperitoneal applizieren läßt. Im Organismus scheint die Bindung des Azulens an das Tween sehr schnell wieder gespalten zu werden, da nach intraperitonealer Gabe sich nach kurzer Zeit sämtliches Azulen in das Fettgewebe des Gekröses begeben hat.

Während nun A 18 eine Wirksamkeit von 0,4 ergab — also etwa ebenso wirksam war wie Kamillenazulen (vgl. folgende Mitt.) — sind die blauen wäßrigen Tweenlösungen vollständig wirkungslos (vgl. Tabelle). Es muß angenommen werden, daß durch den Lösungsvermittler das Azulen zu fest eingehüllt oder gebunden wird. Es ist natürlich möglich, daß bei einem anderen, als dem von uns verwandten Konzentrationsverhältnis (Tween 1%, Azulen 0,01%) die Verhältnisse günstiger sind.

Die Bindung des Azulens an das Tween äußerte sich noch in anderer Weise. Echte Azulenlösungen sowie Ultraschallemulsionen und insonderheit im Papierchromatogramm fein verteiltes und der Luft ausgesetztes Azulen (A 18) geht an der Luft verhältnismäßig schnell in ein grünes Produkt über. Die Tweenlösungen sind erheblich haltbarer (Vergrünung nach über 10 Tagen statt nach etwa 3 Tagen bei der Ultraschallemulsion).

2. *Herstellung von Tröpfchenemulsionen:* Nur bei den ersten Vorversuchen haben wir entsprechend den Angaben von Albath Emulsionen durch Verschütteln einer ätherischen Lösung des Azulens unter Zusatz von Lezithin als Emulgator mit dem wäßrigen Suspensionsmedium hergestellt. Das Vertreiben des Äthers ist schwierig und vermag zur Zerstörung der ursprünglichen Emulsion zu führen. Vorteilhafter und bequemer ist Dispergierung mittels Ultraschall.

Das Azulen wurde in der jeweils abgewogenen Menge als größerer Tropfen gleichzeitig mit etwas physiologischer Kochsalzlösung auf den Schallkopf eines der üblichen medizinischen Ultraschall-Behandlungsgeräte gebracht. Nach Homogenisierung wurde das Gemisch in eine Spritze aufgenommen und durch Zugabe weiterer Kochsalzlösung auf die jeweils gewünschte Konzentration gebracht. Zusatz von Lezithin als Emulgator ist bei den meisten geprüften Azulenen nicht notwendig, man erhält auch so relativ stabile und brauchbare Emulsionen. Da dies aber nicht in jedem Fall zutraf und wir sämtliche Präparate unter gleichen Bedingungen prüfen wollten, haben wir jeweils trotzdem etwas Lezithin zugegeben. (Die Kontrollemulsionen wurden in genau derselben Weise durch Dispergierung von Olivenöl gewonnen.) — Die entstandenen Tröpfchen waren zum Teil sehr klein, kleiner als Blutkörperchen, so daß mindestens ein Teil des Azulens in kolloider Verteilung vorgelegen haben dürfte. Die Emulsionen waren regelmäßig sehr polydispers. Die vorliegende Azulenkonzentration betrug meist 1/1000—1/10000, doch dürfte nach dem oben Gesagten dieser Wert nicht von spezieller Bedeutung sein. (Bestimmung durch Ausschütteln mit Äther und Kolorimetrie.)

Mit diesen Emulsionen haben wir unsere vergleichenden Versuche durchgeführt. Sie waren in fast allen Fällen über die Versuchsdauer (10 Tage) stabil.

Da die Stabilität der Ultraschallemulsionen ohne Zugabe eines Emulgators für eine praktische Anwendung nicht genügt, haben wir einige Versuche mit technischen *Emulgatoren* angeschlossen. Versuche mit den oberflächenaktiven Azulenkarbonsäuren (A 25 und A 26) verliefen ergebnislos. Dagegen waren Tegin-emulgierte Zubereitungen dann brauchbar, wenn ein nicht zu großer Teginzusatz die Azulenwirkung nicht wieder maskierte. Dazu ist in der Tabelle wieder ein Beispiel enthalten. Recht brauchbar erwies sich auch eine Zubereitung, in welcher eine wirksame Karbonsäure (A 25) und Tegin gleichzeitig mit A 18 enthalten war.

Tabelle.

Zubereitungen	Tierzahl	Wirkung
Tween 60 1% — NaCl-Lösung	19	0,0 ± 0,1
Tween 60 1% + A 18 0,01% — Tween 60 1%	19	0,0 ± 0,1
A 18 Ultraschallemulsion — NaCl-Lösung . .	20	0,4 ± 0,12
A 18 20 mg% + Tegin 0,2% — NaCl-Lösung	17	0,38 ± 0,12
A 18 2 mg% + Tegin 0,4% — NaCl-Lösung	12	0,05 ± 0,15
A 18 + (A 25-Diäthanolaminsalz) — NaCl-Lsg.	47	0,45 ± 0,02

Zusammenfassung.

1. Ein Verfahren wurde ausgearbeitet, welches die lokale, antiphlogistische Wirksamkeit einer Verbindung oder Zubereitung als Zahl zu charakterisieren vermag.

2. Brauchbarkeit und Reproduzierbarkeit der Senfölentzündung am Meerschweinchenauge bei Testung antiphlogistischer Zubereitungen werden demonstriert.

3. Ultraschallemulsionen wie andere Tröpfchenemulsionen bei nicht zu hohem Zusatz an Emulgator eignen sich als Zubereitungsformen des Azulens.

4. Die als Tween bezeichneten Zuckeralkohole sind bei Senfölentzündungen am Meerschweinchenauge indifferent. Sie vermögen Azulen in wasserklare Lösung zu bringen, inaktivieren es aber gleichzeitig.

Literatur.

[1] Heubner, W., u. Grabe: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 329 (1933). — [2] Neuwald: Süddtsch. Apoth.-Z. **88**, 362 (1948). — [3] Albath: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 619 (1939. — [4] Pommer, Ch.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 74 (1942). — [5] Krantz, J. C., u. Mitarb.: Quart. J. Pharm. and Pharmacol. **8**, 213 (1935).

Professor Dr. Fritz Jung, Berlin-Buch, Lindenberger Weg 76.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 8—17 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Untersuchungen mit Bienengift und Histamin an der Formaldehydarthritis der Ratte*.

Von

Wilhelm Neumann und Adolf Stracke.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. November 1950.)

Nachdem die Pharmakotherapie chronisch-rheumatischer Gelenkerkrankungen durch die Arbeiten von Hench[1] mit Cortison (17-Oxy-11-dehydrocorticosteron) und von Lewin und Wassén[2] mit einer Kombination von Desoxycorticosteronazetat und Askorbinsäure in ein neues Stadium getreten war, hat Selye[3] mit der sogenannten Formaldehydarthritis der Ratte eine Methode eingeführt, die es gestattet, pharmakologische Wirkungen auf arthritische und periarthritische Veränderungen auch im Tierversuch zu verfolgen. Selye selbst hat an diesem Objekt eine eindeutige therapeutische Wirkung mit Cortison erzielt, und Brownlee[4] hat eine günstige Wirkung der Kombination von Desoxycorticosteronazetat mit Askorbinsäure gezeigt. Diese Beobachtungen veranlaßten uns, mit dieser Methodik ein altbekanntes, klinisch vielfach bewährtes, aber in seinem Wirkungsmechanismus noch wenig geklärtes Rheumamittel zu untersuchen: das Bienengift.

Nach alter Erfahrung sind rheumatische Erkrankungen unter Imkern, die ja häufig Bienenstichen ausgesetzt sind, weniger häufig als in der Gesamtbevölkerung. Terč[5] hat daher als erster systematisch Bienenstiche bei rheumatischen Erkrankungen angewandt, und diese Versuche sind in den letzten Jahrzehnten von vielen Seiten (z. B. Keiter[6], Schwab[7], Forster[8], Hesse[9]) in anderer Form aufgenommen und fortgeführt worden.

Es schien uns von Interesse, die Formaldehydarthritis der Ratte unter prophylaktischer und therapeutischer Anwendung von Bienengift zu verfolgen und auch das Histamin heranzuziehen, das im Bienengift zu etwa 1,0—1,5% enthalten ist (Reinert[10]). Außerdem prüften wir die prophylaktische und therapeutische Wirkung von Desoxycorticosteronglukosid-Askorbinsäure, um die Ergebnisse unserer Versuchsanordnung bzw. unserer Auswertungsmethode mit denen von Selye[3] und Brownlee[4] vergleichen zu können.

Über Einflüsse von Histamin auf die Formaldehydarthritis der Ratte haben kürzlich schon Uebel und Korting[11] berichtet, die aber mit wesentlich höherer Histamindosierung als wir arbeiteten, außerdem Histamin und Formaldehyd an

* Herrn Geheimrat Prof. Dr. E. Rost zum 80. Geburtstag.

gleicher Stelle einwirken ließen und ihre Ergebnisse ähnlich wie SELYE[3] nur nach dem äußeren Bild der behandelten Rattenextremität beurteilten.

Wir strebten dagegen von vornherein an, den Ablauf zahlenmäßig zu erfassen und, soweit möglich, auch statistisch auszuwerten. Ähnlich hat schon BROWNLEE[4] gearbeitet, der aber für die Auswertung die absolute Änderung eines bestimmten Durchmessers benutzt, während wir von der Messung eines Gelenkdurchmessers ausgehen und dessen prozentuale Änderung auswerten.

Methodik.

Bei weißen und weißbraun gefleckten Ratten beider Geschlechter von durchschnittlich 155 (105—260) g wurde die Formaldehydarthritis in Anlehnung an Angaben von SELYE[3] durch Einspritzung von 0,1 cm³ einer 2%igen Formaldehydlösung unter die Plantaraponeurose der linken Hinterpfote erzeugt. Die Tiere erhielten ein Mischfutter (Hafer, Fleischreste, Brot, Wasser).

Zur Bestimmung der Breite des Fußgelenkes wurde der Fuß gestreckt, der Abstand zwischen medialer und lateraler Hautoberfläche in Höhe des Gelenkspaltes mit einer Schublehre auf 0,1 mm genau 3—5mal gemessen und der Mittelwert gebildet. Die Messungen erfolgten täglich 2mal (vormittags und nachmittags). Eine gesetzmäßige Beziehung zwischen den individuellen Werten von normaler Gelenkbreite (5,4—7,3 mm) und Körpergewicht (bzw. der 3. Wurzel der letzteren Zahl) war bei unserem leider nicht einheitlichen Tiermaterial nicht erkennbar. Kleinere Tiere wiesen zum Teil eine nicht nur relativ, sondern auch absolut höhere Gelenkbreite auf als wesentlich größere Ratten.

Die von BROWNLEE[4] benutzte Messung eines von der Fußsohle zum Fußrücken gehenden Durchmessers haben wir auch durchgeführt. Dabei ergaben sich wesentlich höhere Schwellungswerte, es waren aber auch die Schwankungen viel stärker als bei der oben beschriebenen Meßart, so daß z. B. Desoxycorticosteronglukosid-Askorbinsäure keine deutliche Wirkung zeigte. Die Ursache hierfür könnte sowohl in Abweichungen der Meßmethodik als auch der Injektionstechnik bei Auslösung der Arthritis liegen und wäre nur durch eingehendere Versuche zu klären.

Für die kurvenmäßige Darstellung wurde auf Prozent des in 2 Meßreihen an aufeinander folgenden Tagen am unbehandelten Tier ermittelten Ausgangswertes umgerechnet, schließlich aus diesen Einzelwerten für jede Gruppe der Mittelwert gebildet und die 100% übersteigende „Schwellung" als Ordinate gegen die Versuchsdauer aufgetragen (Abb. I—IV).

Die tatsächlich eingetretene Schwellung ist als räumlicher Prozeß wesentlich größer als die hier gemessene und verglichene „Schwellung". Sie kann sich aber infolge der anatomischen Verhältnisse nicht gesetzmäßig ausbreiten, d. h. sie ist nicht als exakte Funktion der Meßwerte zu erfassen.

Außer den weiter unten genannten Versuchsreihen wurden noch einige weitere mit zum Teil gleicher Anordnung durchgeführt, die grundsätzlich gleichartig verliefen, aber wegen des frühzeitigen Ausfalls der meisten Tiere nicht ausgewertet werden konnten.

Die Einspritzung von Bienengift, Histamin und Desoxycorticosteronglukosid (Percorten wasserlöslich) erfolgte subkutan an dem zu dem behandelten Fuß gehörenden Unterschenkel täglich einmal vormittags nach Ausführung der Messungen. Askorbinsäure (Cebion) wurde intraperitoneal verabreicht. Das benutzte Bienen-Trockengift verdanken wir der Firma Heinrich Mack Nachf. (Illertissen/Bay.), das Percorten wasserlöslich (Ampullen mit 10 mg/cm³) der Ciba-A.G. (Wehr/Baden).

Die Präparate wurden in 2 Anordnungen an je einer Gruppe von 5—6 Tieren geprüft: in einer Reihe wurde ½ Stunde nach Injektion des Formaldehyds mit täglichen therapeutischen Einspritzungen des betreffenden Mittels begonnen, bei der zweiten wurden die Tiere zunächst 9 Tage lang prophylaktisch mit Bienengift usw. behandelt, die Formaldehydeinspritzung folgte dann am Nachmittag des letzten Tages der Vorperiode. Bienengift usw. wurden danach nicht mehr gegeben.

Kontrollversuche.

In 2 getrennten Versuchsreihen mit Tieren verschiedener Herkunft wurde der Verlauf einer Formaldehydarthritis an je 5 sonst unbehandelten Ratten verfolgt. Wenige Minuten nach der Injektion wurde der ganze Fuß immer stärker hyperämisch, nach 30 min bestand deutliche Schwellung, die im Laufe der nächsten 24 Std ein Maximum erreichte. Der Durchmesser der Gelenkgegend war zu dieser Zeit in beiden Gruppen übereinstimmend gegenüber dem Ausgangswert im Durchschnitt um 16% erhöht (vgl. Abb. I—IV, Kurve *k*). Er nahm bis zum 4. Tage wieder ab, stieg dann vorübergehend etwas an und fiel dann bis etwa zum 10. bis 15. Tag ab; die dann noch bestehende „Schwellung" betrug ungefähr 6—9%. Da beide Gruppen sich im Verlauf ihrer Durchschnittskurven nur wenig unterschieden, obwohl in der 2. Gruppe am 6. bis 7. Tag 3 Tiere starben, wurden die Werte zu einer gemeinsamen Kontrollkurve *k* vereinigt.

Die Hyperämie war etwa vom 10. Tage ab nicht mehr deutlich. Am 3. bis 5. Tage begannen sich an der Plantar-, seltener auch an der Dorsalseite des Fußes gelbliche Bezirke abzugrenzen, die näßten und verklebten und schließlich in nekrotische Herde mit festen Krusten übergingen. Wenn in diesem Zustand keine Infektion hinzutrat, so lösten sich die Krusten zwischen dem 15. und 20. Tage ab; die darunter liegende Haut erschien dann normal. Infektionen der nekrotischen Bezirke endeten in der Regel mit dem Tod der Tiere. Der Gelenkdurchmesser nahm bis zum 20. Tage nicht mehr wesentlich ab, in der 3. Woche trat aber eine Versteifung des Gelenkes ein, die offenbar dem von Selye[3] beschriebenen chronischen Stadium der Formaldehydarthritis entspricht. Diese späteren Veränderungen können hier außer Betracht bleiben, da sie für den Vergleich mit den Hauptversuchen nicht interessieren.

Versuche mit Bienengift.

1. *9tägige Vorbehandlung mit täglich 1 mg/kg Bienengift:* 5 Ratten von durchschnittlich 140 (115—165) g. Auf tägliche Einspritzung von 1 cm^3/kg von Bienengift $1:10^3$ keine sichtbare Reaktion, jedoch nach 6—9 Tagen eine gewisse Verhärtung der Injektionsstellen; Haut dort nicht mehr verschieblich. Eine entzündliche Reaktion äußerte sich auch in einer leichten Zunahme des Durchmessers der Gelenkgegend, die „Schwellung" ging aber am 3. Tage trotz weiterer Bienengiftverabreichung deutlich zurück. Am 9. Tage Formaldehydarthritis unter dem gleichen Bild wie bei den Kontrollversuchen. „Schwellung" nach 24 Std etwas geringer als bei den Kontrollen (Abb. I, *k*), an den folgenden Tagen stark abnehmend (Abb. I, 1).

2. *9tägige Vorbehandlung mit täglich 0,1 mg/kg Bienengift:* 5 Ratten von durchschnittlich 168 (125—240) g. Auf Bienengiftinjektion (täglich 1 cm^3/kg $1:10^4$) wie bei Versuchsreihe 1 keine sichtbare Reaktion. Verhärtung an den Injektionsstellen schwächer, ebenso die als „Schwellung" auftretende entzündliche Reaktion. Nach der Formaldehydeinspritzung Maximum der „Schwellung" deutlich geringer als bei Kontrollen und Versuchsreihe 1, „Schwellung" annähernd ebenso schnell

zurückgehend wie bei Reihe 1, nach 9 Tagen im Durchschnitt weniger als 5% (Abb. I, 2).

3. *Behandlung mit täglich 1 mg/kg Bienengift:* 5 Ratten von durchschnittlich 168 (120—215) g. Während der Entwicklung der Formaldehydarthritis auf tägliche Einspritzung von Bienengift keine erkennbare Reaktion. Maximum der „Schwellung" bleibt deutlich gegenüber Kontrollen zurück, „Schwellung" nimmt mit Schwankungen ab, Kurve (Abb. II, 3) etwas flacher als die Kontrollkurve (Abb. II, *k*), der sie sich vom 10. Tage ab stark nähert.

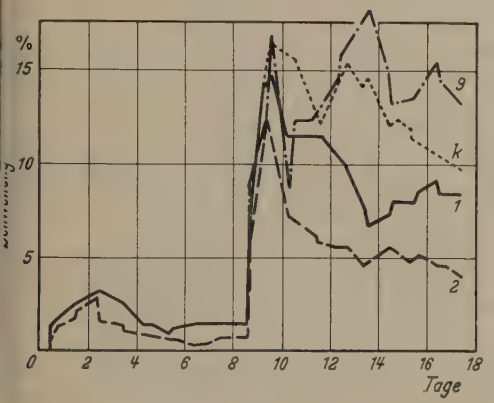


Abb. I.

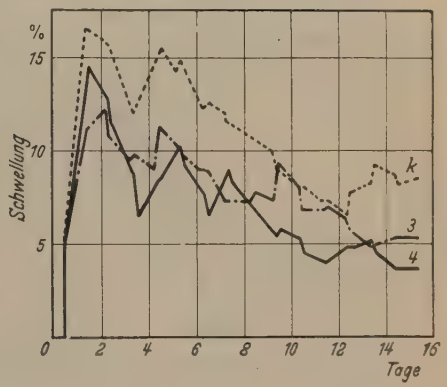


Abb. II.

Abb. I. Formaldehydarthritis nach Vorbehandlung mit Bienengift (—— = 1 = 1 mg/kg/Tag; — — — = 2 = 0,1 mg/kg/Tag) und Percorten-Cebion (— · — · — = 9 = 1 mg bzw. 20 mg/Tag) ..... = *k* = Kontrollen. Am 9. Tag 0,1 cm³ 2% Formaldehyd pro Tier unter die Plantaraponeurose. Ordinate: Prozent „Schwellung" des Fußgelenkes (vgl. Text).

Abb. II. Behandlung der Formaldehydarthritis mit Bienengift (—·—· = 3 = 1 mg/kg/Tag; —— = 4 = 0,1 mg/kg/Tag). · · · · = *k* = Kontrollen. Am 1. Tag Formaldehydeinspritzung.

4. *Behandlung mit täglich 0,1 mg/kg Bienengift:* 5 Ratten von durchschnittlich 158 (125—210) g. „Schwellung"-Maximum bleibt gegenüber dem Kontrollversuch deutlich zurück, liegt aber etwas höher als bei Reihe 3. Rückgang der „Schwellung" mit Schwankungen etwas steiler als bei Reihe 3; Kurve (Abb. II, 4) bleibt stets deutlich unter der des Kontrollversuchs (Abb. II, *k*).

Versuche mit Histamin.

5. *9tägige Vorbehandlung mit täglich 0,1 mg/kg Histaminhydrochlorid:* 5 Ratten von durchschnittlich 155 (125—215) g. Prophylaktische Histamineinspritzung (täglich 1 cm³/kg $1:10^4$) löst weder eine sichtbare noch an Änderungen der Gelenkbreite erkennbare Reaktion aus (Abb. III). Maximum der dann gesetzten Formaldehydarthritis aber geringer als in der Kontrollreihe, „Schwellung" geht zunächst zurück, steigt aber dann wieder, Kurve (Abb. III,5) schließt sich in ihrem weiteren Verlauf der des Kontrollversuchs (Abb. III, *k*) eng an.

6. *9tägige Vorbehandlung mit täglich 0,01 mg/kg Histaminhydrochlorid:* 5 Ratten von durchschnittlich 170 (125—260)g. Während der Vorbehandlungsperiode (täglich 1 cm³/kg $1:10^5$) keine Änderung der Gelenkbreite. Maximum der anschließend gesetzten Formaldehydarthritis aber nicht am 1. Tage, sondern nach vorübergehenden Schwankungen erst nach einigen Tagen erreicht, Kurve (Abb. III, 6) schließlich über der des Kontrollversuchs (Abb. III, *k*).

7. *Behandlung mit täglich 0,1 mg/kg Histaminhydrochlorid:* 6 Ratten von durchschnittlich 148 (105—215) g. Durch die Histaminbehandlung wird die Entwicklung der „Schwellung" deutlich gehemmt, Abnahme erfolgt aber langsamer als in der Kontrollreihe, Maximum erst am 5. bis 6. Tage (Abb. IV, 7).

8. *Behandlung mit täglich 0,01 mg/kg Histaminhydrochlorid:* 5 Ratten von durchschnittlich 174 (120—260) g. Am 1. Tage Maximum der „Schwellung", die dann zurückgeht, um später mit Schwankungen wieder anzusteigen. Kurve (Abb. IV, 8) in der zweiten Hälfte ihres Verlaufs leicht steigend, erhebt sich deutlich über die des Kontrollversuchs (Abb. IV, *k*).

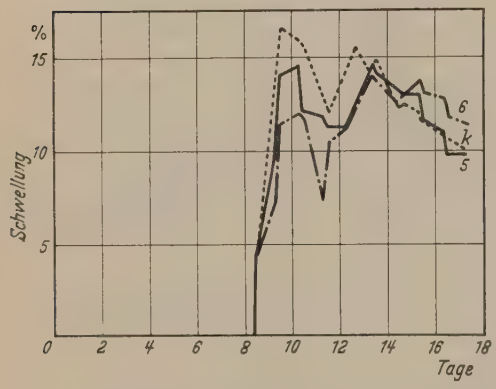


Abb. III.

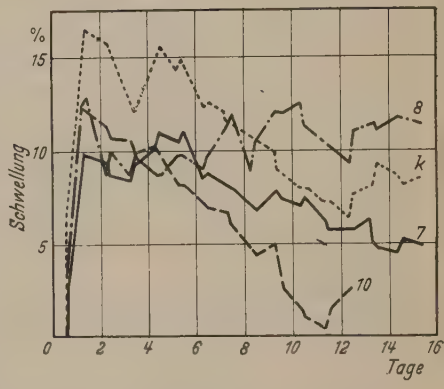


Abb. IV.

Abb. III. Formaldehydarthritis nach Vorbehandlung mit Histamin (—— = 5 = 0,1 mg/kg/Tag; —·—· = 6 = 0,01 mg/kg/Tag). · · · · = *k* = Kontrolle. Sonst wie Abb. I.

Abb. IV. Behandlung der Formaldehydarthritis mit Histamin (—— = 7 = 0,1 mg/kg/Tag; —·—· = 8 = 0,01 mg/kg/Tag) und Percorten-Cebion (— — — = 10 = 1 mg bzw. 20 mg/Tag) · · · · = *k* = Kontrollen. Sonst wie Abb. II.

Versuche mit Desoxycorticosteronglukosid-Ascorbinsäure.

9. *9tägige Vorbehandlung mit täglich 1 mg Percorten und 20 mg Cebion:* 6 Ratten von durchschnittlich 123 (115—130) g. Einspritzungen von je 0,1 cm³ Percorten wasserlöslich s. c. und anschließend 0,2 cm³ Cebion i. p. ohne Einfluß auf Gelenkbreite. Auf Formaldehydeinspritzung zunächst etwas stärkere „Schwellung" als in der Kontrollreihe, nach vorübergehendem Abfall Maximum am 5. Tage, unter Schwankungen Rückgang, „Schwellung" bleibt aber deutlich stärker als bei Kontrollen (Abb. I, 9).

10. *Behandlung mit täglich 1 mg Perkorten und 20 mg Cebion:* 6 Ratten von durchschnittlich 141 (120—195) g. Maximum bleibt bei täglich 0,1 cm³ Percorten s. c. und 0,2 cm³ Cebion i. p. deutlich unter dem der Kontrollreihe, „Schwellung" geht an den folgenden Tagen stetig zurück, ist vom 11. Tage an nur noch ganz gering (Abb. IV, 10).

Histologische Untersuchungen.

Da es möglich wäre, daß die verschiedenen Mittel auf die Formaldehydarthritis nicht in der gleichen Weise wirken und deshalb vielleicht auch morphologische Unterschiede in den Veränderungen der Gelenkgegend verursachen,

haben wir bei einigen Ratten die Gelenkgegend von pathologischer Seite beurteilen lassen*.

Dabei ergab sich in keinem Falle ein rheumatismusähnliches Bild. Im Vordergrund standen vielmehr periarthritische Veränderungen unspezifischer Art, die sich in streifenförmigen Infiltraten entlang den Sehnen, in den Muskelinterstitien und im subkutanen Fett-Bindegewebe ausdrückten, wobei immer wieder Eosinophile auffielen. Die stärksten Veränderungen zeigte eine 3 Tage nach Formaldehydinjektion untersuchte Ratte und ein mit Percorten-Cebion vorbehandeltes Tier am 19. Versuchstag. Wir möchten auf die Befunde nicht näher eingehen, da die Zahl der untersuchten Tiere zu gering ist. Die aufgeworfene Frage erscheint uns einer näheren Verfolgung bedürftig; nach SELYE[3] soll die Formaldehydarthritis der Ratte in ihrem akuten ödematösen Stadium dem „rheumatischen" und in ihrem chronischen Stadium dem „rheumatoiden" Typ der Arthritis ähneln. Die von SELYE angekündigte histologische Arbeit konnten wir in der uns zugänglichen Literatur nicht auffinden.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus Abb. I—IV sind deutliche Unterschiede in der Wirkung von Bienengift, Histamin und Desoxycorticosteronglukosid-Askorbinsäure auf die Formaldehydarthritis der Ratte zu erkennen. Die durch Formaldehydeinspritzung entstehende Schwellung des Fußgelenkes ist in unseren Versuchen nach prophylaktischer Verabreichung von Percorten-Cebion (Abb. I, 9) offenbar stärker und geht auch langsamer zurück als in der Kontrollgruppe (Abb. I, *k*); nach 9tägiger Vorbehandlung mit Histamin ist sie anscheinend etwas abgeschwächt (Abb. III, 5 und 6), durch Bienengift dagegen wird sie deutlich verringert (Abb. I, 1 und 2). Im Therapieversuch zeigt die angewandte Percorten-Cebion-Dosierung die günstigste Wirkung; die Schwellung bleibt von Anfang an geringer und verschwindet dann nahezu vollständig in etwa 10 Tagen (Abb. IV, 10). Bienengiftbehandlung vermindert ebenfalls schon zu Anfang die Schwellung, die im Laufe der weiteren Beobachtungen stärker zurückgeht als in der Kontrollgruppe, aber nach etwa 14 Tagen noch etwas stärker ist (Abb. II, 3 und 4) als bei der Percorten-Cebiongruppe (Abb. IV, 10). Die therapeutische Anwendung von Histamin vermindert anfangs die Schwellung, läßt sie aber weiterhin nur in der stärkeren Dosierung von 0,1 mg/kg/Tag zurückgehen, während 0,01 mg/kg/Tag sie über die ganze Beobachtungsdauer hin anscheinend unverändert bestehen läßt.

Die in die Abbildungen eingetragenen täglichen Durchschnittswerte der „Schwellung" ergeben über die ganze Versuchsdauer und für jede Gruppe einen aus Tabelle 1, Spalte 5 ersichtlichen Mittelwert („Gruppenwert"). Da die Versuchsreihen 1—10 eine verschiedene Dauer hatten,

---

* Herrn Professor Dr. E. KIRCH, Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg, und Herrn Dr. G. DHOM danken wir auch an dieser Stelle für die Untersuchung und Beurteilung des Materials.

wurde für die Kontrollgruppe der Gruppenwert ebenfalls für diese Zeiträume (10, 16, 13 Tage) berechnet. In jeder Versuchsreihe läßt sich die Differenz zwischen ihrem Gruppenwert und dem entsprechenden Gruppenwert der Kontrollen bilden (Tab. 1, Sp. 6). Die größte Differenz d. h. also die größte durchschnittliche Hemmung der „Schwellung", findet sich bei Vorbehandlung mit Bienengift (9×0,1 mg/kg/Tag), es folgen der Reihe nach Behandlung mit Percorten-Cebion, mit täglich 0,1 mg/kg Bienengift und mit täglich 0,1 mg/kg Histamin.

Die günstige Wirkung der Percorten-Cebionbehandlung entspricht den oben erwähnten Erfahrungen von Brownlee[4] mit Desoxycorticosteronazetat-Askorbinsäure. Brownlee hat wie wir Gruppenwerte gebildet, aber keine Messungen an einer Kontrollgruppe mit unbehandelter Formaldehydarthritis und keinen Kontroll-Gruppenwert mitgeteilt. Er vergleicht aber die Wirkung der genannten Kombination mit der ihrer einzelnen Komponenten und findet dabei eine schädliche Wirkung der Behandlung mit Desoxycorticosteronazetat (DCA) allein. Sie äußert sich in einer anhaltenden Zunahme der Schwellung; der Gruppenwert liegt hier mit 6,1 ± 0,12 mm höher als bei DCA-Askorbinsäure (5,5 ± 0,07 mm) und bei Askorbinsäure allein (5,7 ± 0,06 mm). Eine ungünstige Wirkung der Behandlung mit DCA allein hat schon Selye[3] gefunden. Aus den Angaben von Brownlee ist also die Reihenfolge der Wirkung der 3 Behandlungsarten zu entnehmen; das Ausmaß der Wirkung auf eine unbehandelte Formaldehydarthritis bleibt ungewiß.

Durch unsere Untersuchungen werden die von Brownlee mit dem *Azetat* des Desoxycorticosterons erzielten Ergebnisse dahin ergänzt, daß auch das *Glukosid* in Kombination mit Askorbinsäure in gleicher Weise wirkt, das ja auch in der Klinik (z. B. von Le Vay und Loxton[12]) schon mit Erfolg bei rheumatischen Leiden angewandt wurde. Wir können überdies den Grad dieser Wirkung ebenso wie bei den anderen von uns untersuchten Stoffen durch Vergleich mit der Kontrollgruppe zahlenmäßig erfassen.

Über die Berechnung des mittleren Fehlers seiner Gruppenwerte teilt Brownlee nichts mit. Wir haben zur Berechnung der in Sp. 7 und 8 der Tab. 1 angeführten Werte für σ und ε täglich für jedes Tier die Differenz gegenüber dem aus den Abbildungen ersichtlichen Tageswert der Gruppe ermittelt. Aus der Summe der absoluten Werte dieser Differenzen über die Versuchsdauer hin ergab sich für jedes Tier ein Mittelwert d und für die n-Tiere der Gruppe $\sigma = \pm\sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$ und $\varepsilon = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$. Die k-Werte in Spalte 9 der Tab. 1 ergeben sich aus $k = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$, wobei M_1 und M_2 die Gruppenwerte (Sp. 5) und ε_1 und ε_2 die Werte aus Spalte 8 für Kontroll- und Versuchsgruppe darstellen.

Die rechnerische Auswertung ergibt die kleinsten Werte für ε und die höchsten für k bei denselben Gruppen, die auch die größte durchschnittliche Hemmung der „Schwellung" aufweisen: Vorbehandlung mit Bienengift (9×0,1 mg/kg/Tag) Behandlung mit Percorten-Cebion, Behandlung mit Bienengift (0,1 mg/kg/Tag) und Behandlung mit Histamin (0,1 mg/kg/Tag).

Tabelle 1. *Einwirkung von Bienengift, Histamin und Percorten-Cebion auf die Formaldehydarthritis der Ratte.*

Vers.	Abb.	Versuchsanordnung	Form. arthr. beob. Tage	„Schwellungen" durchschn. (Gruppenwert) %	„Schwellungen" Differenz gegen a, b, c, %	σ^*	ε^*	k^*
1	2	3	4	5	6	7	8	9
a	I+III	Formaldehyd-Kontrollgruppe	10	12,4	—	± 4,68	± 1,77	—
b	IV	„ „	13	11,2	—	± 4,43	± 1,68	—
c	II+IV	„ „	16	10,7	—	± 4,11	± 1,55	—
1	I	Vorbeh. m. Bienengift 9×1,0 mg/kg/Tag . .	10	9,5	— 2,9	± 3,24	± 1,45	1,25
2	I	Desgleichen 9×0,1 „ . . .	10	6,1	— 6,3	± 1,69	± 0,76	3,28
3	II	Beh. m. Bienengift 1,0 „ . . .	16	7,9	— 2,8	± 4,19	± 1,87	1,16
4	II	Desgleichen 0,1 „ . . .	16	7,0	— 3,7	± 2,47	± 1,11	1,93
5	III	Vorbeh. m. Histamin 9×0,1 „ . . .	10	11,5	— 0,9	± 3,38	± 1,51	0,36
6	III	Desgleichen 9×0,01 „ . . .	10	11,0	— 1,4	± 2,96	± 1,32	0,64
7	IV	Beh. m. Histamin 0,1 „ . . .	16	7,5	— 3,2	± 2,45	± 1,00	1,75
8	IV	Desgleichen 0,01 „ . . .	16	10,2	— 0,5	± 2,65	± 1,18	0,25
9	I	Vorbeh. m. Percort.-Ceb., 9 Tage (s. Text) . .	10	13,6	+ 1,2	± 5,70	± 2,33	0,42
10	IV	Beh. m. Percort.-Ceb., (s. Text)	13	6,4	— 4,8	± 2,40	± 0,98	2,47

* Siehe Text

Aus den k-Werten ergibt sich nach den Tabellen von Fisher[13], daß in den eben genannten Gruppen das Resultat nur mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 1:100 bzw. 1:20, 1:10 und 1:10 durch einen Fehler der Auswahl bedingt sein kann. Bei Versuchsreihe 1 und 3 ist zwar immer noch mit überwiegender Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß eine Verminderung der „Schwellung" gegenüber der Kontrollgruppe vorliegt, dieses Ergebnis darf aber nicht mehr als statistisch signifikant angesehen werden.

Das *Bienengift* besitzt nach diesen Versuchen und in dieser Anordnung eine prophylaktische und therapeutische Wirkung gegenüber dem akuten Stadium der Formaldehydarthritis der Ratte, wenn täglich 0,1 mg/kg in der oben geschilderten Weise s. c. gegeben werden, die 10fache Menge wirkt deutlich schwächer. Auch die niedrigere der beiden Dosierungen könnte noch relativ hoch erscheinen, wenn man davon ausgeht, daß die in einem Bienenstich durchschnittlich enthaltene Giftmenge ungefähr 0,1 mg beträgt und daß Einzeldosen dieser Höhe beim Menschen in der Regel nur im Verlauf einer längeren Behandlung mit ansteigenden Dosen angewandt werden. Der Unterschied zwischen pharmakologischer und klinischer Dosierung wird aber weniger auffällig, wenn man berücksichtigt, daß auch die nach Selye und Brownlee und nach unseren Versuchen an der Ratte wirksame Dosis der Desoxycorticosteronabkömmlinge mit etwa 4—10 mg/kg weit über der beim Rheumatiker angewandten Einzelgabe von etwa 5 mg liegt. Die Formaldehydarthritis der Ratte benötigt anscheinend eine wesentlich höhere Dosierung als die rheumatischen Erkrankungen des Menschen.

Der Mechanismus der Bienengiftwirkung ist noch nicht zu übersehen. Es wäre an einen zentralen, über das adrenocorticotrope Hormon verlaufenden Prozeß zu denken, aber auch an einen Angriff an der Nebenniere; denn hohe Dosen von Bienengift bewirken ja auch eine Adrenalinausschüttung (Feldberg[14]). Außerdem muß noch mit „unspezifischen Reizwirkungen" und lokalen Reaktionen gerechnet werden. Der geringere Erfolg höherer Dosen könnte z. B. damit erklärt werden, daß hier das Gift zum Teil im Sinne einer Herdreaktion auf das erkrankte Gelenk wirkt, die als Folge zu starker Dosen aus der Klinik bekannt ist (z. B. Hesse[9]). Der Histamingehalt des Giftes kommt als Ursache seiner therapeutischen Wirkung nicht in Betracht. Prophylaktische Histamindosen von 0,1 und 0,01 mg/kg blieben bei unseren Versuchen wirkungslos, therapeutisch wirkte nur die höhere der beiden Dosierungen. Sie würde aber einer Giftdosierung von rund 10,0 mg/kg entsprechen, also dem Hundertfachen der tatsächlich wirksamen Menge.

Auch die Ergebnisse von Uebel und Korting[11] sprechen dafür, daß der Histamingehalt nicht zur Erklärung der Bienengiftwirkung ausreicht; denn die (bei lokaler Anwendung am erkrankten Fuß!) wirksame Histamindosierung liegt bei den Versuchen dieser Autoren mit rund 0,7—0,8 mg/kg noch wesentlich höher als die von uns angewandte. Auch körpereigenes Histamin, das durch das Bienengift freigesetzt werden könnte, kann die Bienengiftwirkung nicht erklären, da

Geske und Jung[15] gezeigt haben, daß die mit dem Bienenstich verbundene Steigerung der Hauttemperatur durch Neoantergan nur wenig vermindert wird, während Schmerz, Ödem und Rötung nicht sichtbar verändert werden.

Besonders auffällig ist das lange Anhalten der „Schwellung" bei Behandlung mit 0,01 mg/kg Histamin; dieser Befund bedarf einer Überprüfung. Der ungünstige Einfluß einer Vorbehandlung mit Percorten-Cebion ist vielleicht als Auswirkung einer Überschwemmung des Organismus mit Desoxycorticosteron zu deuten. Wie schon erwähnt, haben Selye und Brownlee eine Verschlechterung der Formaldehydarthritis durch Verabreichung von DCA allein (ohne Askorbinsäure) gesehen, und Brownlee hat darauf hingewiesen, daß die auffallenden Unterschiede in der klinischen Beurteilung der DCA-Askorbinsäurebehandlung unter dem Gesichtspunkt einer manchmal zu hohen DCA-Dosierung erklärt werden könnten.

Zusammenfassung.

An der akuten Formaldehydarthritis der Ratte wird der Einfluß einer prophylaktischen und therapeutischen Verabreichung von Bienengift und Histamin verfolgt und mit der Wirkung der Kombination Desoxycorticosteronglukosid + Askorbinsäure verglichen. Die gegenüber älteren Arbeiten etwas geänderte Methodik und die rechnerische Auswertung der Schwellung der Gelenkgegend durch Vergleich mit einer Formaldehyd-Kontrollgruppe werden geschildert.

Bienengift besitzt in geeigneter Dosierung eine statistisch signifikante prophylaktische und therapeutische Wirkung. Auch Histaminbehandlung war in einer Versuchsreihe signifikant wirksam. Der Erfolg der Bienengiftbehandlung ist jedoch nicht auf den Histamingehalt des Giftes und auch nicht auf Freisetzung von körpereigenem Histamin zurückzuführen.

Desoxycorticosteron-Glukosid wirkt in Kombination mit Askorbinsäure in gleicher Weise wie das Azetat.

Die Formaldehydarthritis scheint zur pharmakologischen Prüfung antirheumatischer Mittel geeignet zu sein, doch bedarf der Ablauf der histologischen Änderungen sowohl unter Formaldehyd allein als auch unter therapeutischen Maßnahmen noch näherer Klärung.

Literatur.

[1] Hench, P. S., E. C. Kendall, C. H. Slocum u. H. P. Polley: Proc. Mayo Clin. **24**, 181 (1949). — [2] Lewin, E., u. E. Wassén: Lancet **257**, 993 (1949). — [3] Selye, H.: Brit. med. J. **1949**, 1129. — [4] Brownlee, G.: Lancet **1950**, 157. — [5] Terč: Wien. med. Presse **35** (1888). — Keiter, A.: Rheumatismus u. Bienenstichbehandlung. Wien u. Leipzig 1914. — [7] Schwab, R.: Münch. med. Wschr. **1934**, 793. — Bienengift als Heilmittel (1938). — [8] Forster, K. A.: Pharmazie **4**, 499 (1949). — [9] Hesse, W.: Med. Mschr. **1949**, 688. — [10] Reinert, M.: Schweiz. med. Wschr. **23**, 515 (1937). — [11] Uebel, H., u. G. Korting: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 451 (1950). — [12] Le Vay, D., u. G. E. Loxton: Lancet **258**, 209 (1950). — [13] Fisher, R. A.: zit. nach Burn: Biolog. Auswertungs-Methoden. Berlin 1937. — [14] Feldberg, W.: J. Physiol. **99**, 104 (1940). — [15] Geske, H., u. F. Jung: Klin. Wschr. **1950**, 477.

Prof. Dr. Dr. W. Neumann, Würzburg, Koellikerstr. 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 18—29 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.
(Direktor: Prof. Dr. B. Behrens).

Über die beschleunigende Wirkung des Histamins auf die Blutgerinnung und ihre Beeinflussung durch Antihistaminica.

Von
Gerhard Zetler.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. November 1950.)

Bei einer Reihe von pathologischen Prozessen, an deren Zustandekommen Histamin sicher beteiligt ist, ist die Blutgerinnungszeit verkürzt.

Dies steht fest für die lokale Kälteschädigung (Mantscheff[1], Kahmann[2]), bei der Ziemke[3] eine Zunahme des Histamins im Blute nachwies. Auch nach Verbrennungen nimmt nicht nur die Menge des Bluthistamins zu (Barsoum und Gaddum[4]), sondern es verkürzt sich auch die Blutgerinnungszeit (Ewig[5]). Auch beruht einer der wesentlichen Unterschiede zwischen dem anaphylaktischen und dem Histaminschock auf der verkürzten Blutgerinnungszeit beim Histaminschock (Modrakowski[6], Smith[7], Zopff[8]), wogegen das Blut während der anaphylaktischen Reaktion verlangsamt gerinnt.

Da eine eingehende Untersuchung über den Einfluß des Histamins auf die Blutgerinnung fehlt, stellten wir die in dieser Arbeit geschilderten Versuche (unter Mitwirkung von Frl. cand. med. Rabe[9]) an; ferner wurde die antagonistische Wirkung der Antihistaminica im Rahmen dieses Problems untersucht. Die Blutgerinnungszeit prüften wir mittels der bekannten Bürkerschen Methode, als Versuchstiere dienten Kaninchen.

Da Fleisch und Tripod[10] sowie Fleisch und Posternak[11] eine dem Kaninchen eigentümliche „posttraumatische Blutungszeitverkürzung" feststellten und auf eine Änderung des Blutchemismus durch häufige kleine Blutungen zurückführten, prüften wir zuvor, ob häufige Blutabnahme durch kurzen Einstich in die Ohrvene die Blutgerinnungszeit verändert; dies war nicht der Fall.

Zunächst untersuchten wir den Einfluß der Applikationsart auf die Wirkung des Histamins. 0,05 mg/kg Histaminchlorhydrat wurden intravenös, intramuskulär und subkutan bei je 5 Kaninchen verabreicht und die Mittelwerte graphisch dargestellt (Abb. 1). Bei allen 3 Applikationsarten kam es zu einer ausgiebigen Verkürzung der Blutgerinnungszeit, bei intravenöser und subkutaner Verabreichung allerdings in den ersten 15 min nach der Injektion zu einer (fraglichen) Verzögerung der Blutgerinnung um 8,8% (i.v.) bzw. 7,5 (sct.); deshalb injizierten wir in allen weiteren Versuchen das Histamin intramuskulär.

Erwartungsgemäß (Axmacher[12]) trat das Wirkungsmaximum nach intravenöser Gabe am frühesten ein (nach 1,5 Std), dann folgte allerdings der Subkutanwert (nach 2 Std) und zuletzt der Wert nach intramuskulärer Injektion (nach

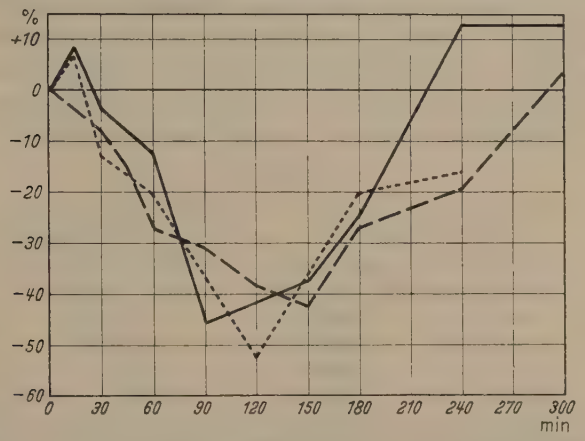


Abb. 1. Wirkung von 0,05 mg/kg Histamin bei verschiedenartiger Applikation (Mittelwerte von je 5 Kaninchen). — Abszisse: Zeit nach der Histamin-Injektion in Minuten. Ordinate: Änderung der Blutgerinnungszeit in Prozent der Norm. ——— intravenöse Injektion, — — — intramuskuläre Injektion, ... subkutane Injektion.

2,5 Std); die Schnelligkeit der Rückkehr zur Norm folgte in der gleichen Reihenfolge. Anders verhielt sich das Ausmaß der Wirkungen; hier stand der Subkutanwert mit einer Verkürzung um 52,2% der Norm an der Spitze, dann folgte die intravenöse Verabreichung mit 45,6% und schließlich die intramuskuläre mit 42,3%. Nach subkutaner Verabreichung verkürzte Histamin die Blutgerinnungszeit als rascher und stärker als zu erwarten.

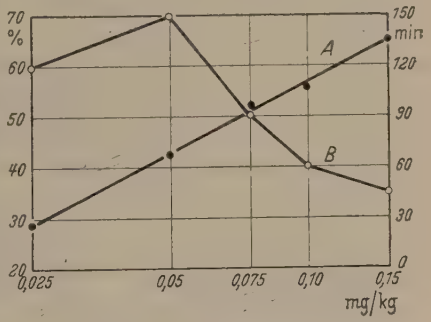


Abb. 2. Beziehungen zwischen verabreichter Histamindosis (intramuskulär) und der Größe der maximalen Verkürzung der Gerinnungszeit (Kurve *A*) sowie der Zeit, die bis zum Eintritt der maximalen Wirkung des Histamins vergeht (Kurve *B*; Mittelwerte aus je 5 Versuchen für jede Histamindosis. Abszisse in logarithmischer Einteilung: Histamindosen in mg/kg. Ordinate: links Verkürzung der Blutgerinnungszeit in Prozent der Norm, rechts Zeit bis zum Eintritt des Wirkungsmaximums in Minuten.

Die Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis ermittelten wir in Versuchen, bei denen wir je 5 Kaninchen intramuskulär 0,025, 0,075, 0,1 und 0,15 mg/kg Histamin injizierten. Die Mittelwerte wurden gegliedert einmal nach der Größe ihres Wirkungsmaximums und ferner nach dem Zeitpunkt seines Eintretens (Abb. 2). Mit steigender Histamindosis trat die Wirkung früher und stärker ein. — Nicht nur endogenes sondern auch exogenes Histamin verkürzt also die Blutgerinnungszeit und zwar in gesetzmäßiger Abhängigkeit von der Dosis.

In einer Versuchsreihe beobachteten wir die Zahl der Thrombozyten nach Injektion von Histamin (Thrombozytenzählung nach Lenggenhager[13]), da Zopff[8] im Histaminschock einen weitgehenden Parallelismus zwischen Zunahme der Thrombozytenzahl und Gerinnungsfähigkeit des Blutes festgestellt hatte. Nach Abnahme der Normalwerte wurden bei 5 Kaninchen je 0,15 mg/kg Histamin intramuskulär injiziert und 30 min später wiederum Blutgerinnungszeit und Thrombozytenzahl bestimmt. Wie Tabelle 1 zeigt, ist es nicht möglich,

Tabelle 1.

Tier	vor der Histamingabe		nach der Histamingabe	
	Blutger.-Zeit in sec	Thrombozytenzahl	Blutger.-Zeit in sec	Thrombozytenzahl
1	180	362000	75	379000
2	150	307000	65	299000
3	150	298000	40	316000
4	150	312000	35	332000
5	150	318000	55	324000
M	156	313400	54	328600

die Verkürzung der Gerinnungszeit nach Histamingabe auf eine entsprechende Zunahme der Thrombozyten zurückzuführen.

Für Versuche in vitro gingen wir von der Annahme aus, daß ein Kaninchen pro Kilogramm etwa 60 cm³ Blut besitzt und ermittelten so die den bisher geschilderten Versuchen äquivalenten Histaminkonzentrationen. Im Hohlschliff des Objektträgers nach Bürker vermischten wir im Leerversuch 0,02 cm³ Nativblut aus der Ohrvene des Kaninchens mit 0,02 cm³ Aqu. dest., sowie mit Histaminlösungen von 0,0167 mg%; 0,083 mg%; 0,167 mg% und 1,67 mg% (entsprechend 0,01, 0,05, 0,1 und 1,0 mg auf 60 cm³ Aqu. dest.). Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse und beweist, daß Histamin auch bei gleichbleibender Zellenzahl und Prothrombinmenge die Blutgerinnungszeit verkürzt.

Tabelle 2.

Tier	normale Gerinnungszeit sec	Histaminkonzentration in mg%			
		0,0167 sec	0,083 sec	0,167 sec	1,67 sec
1	180	180	60	55	30
2	120	115	90	60	60
3	180	180	90	50	60
4	120	105	60	45	30
5	120	100	90	55	30
M	144	136	78	53	42
Verkürzung der Ger.-Zeit in % der Norm:		5	46	63	70,8

Nun versuchten wir zu klären, ob diese Histaminwirkung durch Antihistaminica zu beeinflussen ist. In der umfangreichen Literatur über den Antagonismus Histamin—Antihistaminica fanden wir keine Arbeit bezüglich der Blutgerinnung. Deshalb ermittelten wir in Vorversuchen diejenige Dosis des Antihistaminicums „Antistin"*, die die

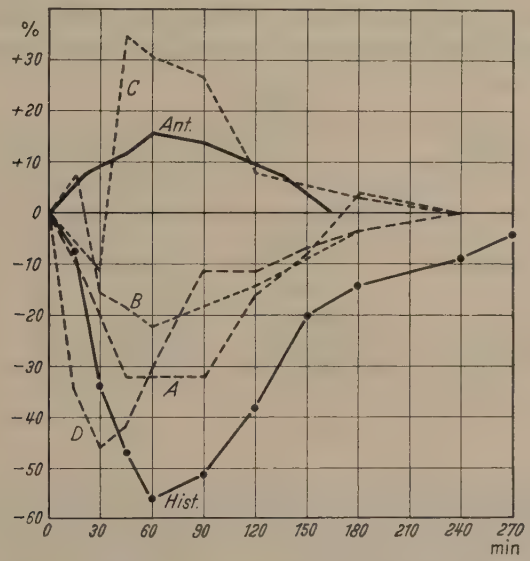


Abb. 3. Antagonistische Wirkung von Antistin auf den Histamineffekt bei Variierung der zeitlichen Beziehungen zwischen der Verabreichung beider Stoffe (Mittelwerte aus je 5 Versuchen). Abszisse: Zeit seit Wirkungsbeginn in Minuten. Ordinate: Änderung der Blutgerinnungszeit in Prozent der Norm.
Ant = Antistin 32,0 mg/kg intramuskulär,
Hist = Histamin 0,1 mg/kg intramuskulär,
A = Antistin und Histamin gleichzeitig,
B = erst Antistin, 15 min später Histamin,
C = erst Histamin, 15 min später Antistin,
D = erst Histamin, 24 min später Antistin.

Wirkung von 0,1 mg/kg Histamin aufhob; beide Stoffe wurden an verschiedenen Körperstellen des Kaninchens gleichzeitig intramuskulär injiziert. 2,0 mg/kg Antistin hatten keine Wirkung, 16,0 mg/kg schwächten die Histaminwirkung bereits und 32,0 mg/kg hoben sie weitgehend auf. Diese Antistindosis allein verlängerte die Blutgerinnungszeit deutlich (Abb. 3).

Diese letzte, wirksame Antistindosis kombinierten wir nunmehr mit der Histamindosis von 0,1 mg/kg unter Variierung des Zeitmomentes bei der Aufeinanderfolge der beiden Pharmaka; die einzelnen Kombinationen wurden je 5 Kaninchen verabreicht, die Mittelwerte aus diesen

* Der Firma CIBA-AG, Wehr/Baden sei für die Überlassung von Versuchsmengen „Antistin" gedankt.

Versuchen zeigt Abb. 3. Durch diese Versuchsanordnung hofften wir feststellen zu können, wie lange der Histamineffekt noch für Antistin „greifbar" und welcher Zeitpunkt für die Antistingabe der günstigste sei. Antistin entfaltete seine beste Wirkung, wenn es 15 min nach der Histamingabe verabreicht wurde (Kurve C); die in der ersten Viertelstunde noch vorhandene Histaminwirkung wurde nämlich nicht nur zunichte gemacht, sondern es trat auffallenderweise sogar eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit ein, die doppelt so stark war wie nach

Tabelle 3.

Tier	normale Gerinnungszeit sec	Antistinkonzentration in mg% 26,7 sec	53,3 sec	80,0 sec
6	106	100	125	135
7	103	115	130	135
8	156	156	170	170
9	111	120	120	160
10	95	115	140	130
M	114	121	133	145
Verlängerung der Ger.-Zeit in % der Norm:		6,2	16,7	27,2

Antistin allein. Dieser Befund war bei allen 5 Versuchstieren eindeutig vorhanden. Bei allen anderen Kombinationen schwächte Antistin die Histaminwirkung ab, bei gleichzeitiger Verabreichung jedoch nicht so stark wie bei Injektion 15 min vor der Histamingabe. Sogar noch 24 min nach der Histamininjektion konnte Antistin einen antagonistischen Einfluß ausüben.

Daß Antistin auch außerhalb des Organismus auf die Gerinnungszeit nativen Vollblutes verlängernd einwirkt, zeigten Versuche, die auf dieselbe Weise wie die der Tabelle 2 vorgenommen wurden. Auch in diesem Falle suchten wir die Antistinkonzentrationen den in der Blutbahn des Kaninchens zu erwartenden anzupassen; dabei entsprachen 26,7 mg% der Dosis 16 mg/kg; 53,3 mg% der Dosis 32 mg/kg und 80 mg% der Dosis 48 mg/kg am ganzen Kaninchen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Wie ein Vergleich mit der Abb. 3 zeigt, bewirkt Antistin in vivo wie auch in vitro in der Konzentration von 53,3 mg% (= 32 mg/kg) eine Verlängerung der Gerinnungszeit um etwa 16%.

Auch in vitro läßt sich der am Tier beobachtete Antagonismus nachweisen; bei diesen Versuchen wandten wir neben Antistin auch Neo-Antergan an. Wir benutzten diesmal molare Lösungen, die wir auf die Salze der Stoffe berechneten. — Gerinnungsansatz: 0,04 cm³ Nativblut aus der Ohrvene des Kaninchens + 0,04 cm³ Aqu. dest.; 0,02 cm³

Aqu. dest. wurden dann durch 0,02 cm³ der zu prüfenden Stoffe (0,001 molare Lösungen) ersetzt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4. Auch Neo-Antergan wirkte also blutgerinnungsverzögernd, und zwar erwies es sich als stärkeres Antihistaminicum nicht nur dadurch, daß es stärker verlängernd wirkte als Antistin sondern auch durch die vollkommenere Auslöschung des Histamineffektes; war doch nach Neo-Antergan trotz der Anwesenheit von Histamin die Blutgerinnungszeit noch verlängert, während Antistin den Histamineffekt nur auf die Hälfte verminderte.

Tabelle 4.

Tier	normale Blut-gerinnungs-zeit in sec	+ Hist. sec	+ Antist. sec	+ Neo. sec	+ Hist. + Antist. sec	+ Hist. + Neo. sec
11	131	115	150	155	135	130
12	120	90	145	165	110	120
13	125	110	160	170	110	135
14	140	100	150	165	120	150
15	125	95	145	160	105	155
M	128	102	150	163	116	138
Änderung d. Blut-ger.-Zeit in % d. Norm:		— 20,4	+ 17,2	+ 27,4	— 9,4	+ 7,8

Nun interessierte noch die Frage, ob der am Kaninchenblut nachweisbare Antagonismus zwischen Histamin und Antihistaminicum irgendwie an die Anwesenheit von Zellen gebunden sei. — Es wurden Versuche mit völlig zellfrei zentrifugierten Plasmen (Na. oxalat. 0,1 mol: Blut = 1:9) unternommen, wobei die Proben mit oder ohne die zu prüfenden Stoffe rekalzifiziert wurden ($CaCl_2$-Lösung 0,548%). — Gerinnungsansatz: 0,1 cm³ Plasma + 0,1 cm³ Aqu. dest. + 0,1 cm³ $CaCl_2$-Lösung; das Aqu. dest. wurde dann durch die zu prüfenden Lösungen ersetzt. — Nachdem wir beim Kaninchenplasma gefunden hatten, daß der Effekt einer $1{,}0 \cdot 10^{-3}$ molaren Histaminlösung (Verkürzung der Plasmagerinnungszeit um 23%) von einer $0{,}5 \cdot 10^{-3}$ molaren Antistinlösung völlig unterdrückt wurde, gingen wir zu Versuchen an zellfreien menschlichen Plasmen über. Bei der Dosierung gingen wir von den beim Kaninchen gewonnenen Erfahrungen aus, allerdings mußte die Antistin-Dosis auf das Fünffache erhöht werden, um gute Ergebnisse zu erzielen.

Einige Beispiele sind in Tabelle 5 aufgeführt, die gleichzeitig auch den Variationsbereich der Ergebnisse andeutet. Der Antagonismus Antistin — Histamin tritt in allen Fällen klar zutage, obwohl die Ergebnisse sonst nicht einheitlich sind, besonders auch im Hinblick auf Vp. 5. Folgende Punkte scheinen bemerkenswert zu sein: Obwohl bei Vp. 3

Antistin die Plasmagerinnungszeit fast genau so stark verkürzt wie Histamin allein, lassen beide Stoffe zusammen die Gerinnungszeit fast unverändert. Bei Vp. 4 dagegen verlängert Antistin die Gerinnungszeit mäßig, zusammen mit Histamin jedoch mehr als doppelt so stark; dieses Ergebnis erinnert an gewisse Versuche beim Kaninchen in vivo, wo Histamin und Antistin zusammen die Blutgerinnungszeit ebenfalls stark verlängerten (Abb. 3, Kurve C). Die Ergebnisse bei Vp. 5 weichen völlig von den anderen Befunden ab, da hier auch Histamin die Plasmagerinnungszeit verlängert; trotzdem hat auch in diesem Falle Antistin eine antagonistische Wirkung.

Gerinnungsansätze:

Leerwert:	Plasma	0,2 cm³	+ Histamin:	Plasma	0,2 cm³
	NaCl 0,95%	0,2 cm³		NaCl-Lösg.	0,1 cm³
	$CaCl_2$ 0,548%	0,2 cm³		Histaminlösg.	0,1 cm³
				$CaCl_2$-Lösg.	0,2 cm³
			+ Histamin		
+ Antistin:	Plasma	0,2 cm³	+ Antistin:	Plasma	0,2 cm³
	NaCl-Lösg.	0,1 cm³		Histaminlösg.	0,1 cm³
	Antistinlösg.	0,1 cm³		Antistinlösg.	0,1 cm³
	$CaCl_2$-Lösg.	0,2 cm³		$CaCl_2$-Lösg.	0,2 cm³

Histaminlösung = 1,65 mg%; Antistinlösung = 0,4%.

Bei Versuchen mit Meerschweinchenplasmen erhielten wir ebenfalls gelegentlich auffallende verlängernde Wirkungen des Histamins. Auch hierbei wirkte Antistin antagonistisch und zwar in einem viel ausgeprägteren Maße.

Tabelle 5.

Vp.:	sec 1. ♀ %	sec 2. ♂ %	sec 3. ♀ %	sec 4. ♂ %	sec 5. ♂ %
Leerwert	172 (100)	325 (100)	356 (100)	437 (100)	240 (100)
+ Histamin	126 (72,5)	209 (64)	257 (72)	338 (77)	281 (117)
+ Antistin	177 (103)	311 (104)	270 (76)	500 (114)	298 (124)
+ Histamin + Antistin .	181 (105)	313 (96,5)	360(101,5)	573 (131)	165 (111)

Diskussion.

Einige unserer Befunde verlangen eine genauere Erörterung. — Zunächst ist es sehr auffallend, daß die Wirkung intravenös injizierten Histamins so lange anhielt; wie die Abbildungen zeigen, dauerte es geraume Zeit, bis das Wirkungsmaximum erreicht wurde und es vergingen Stunden, ehe der Normalzustand wieder eintrat. Dies ist besonders deshalb erstaunlich, da es feststeht, daß intravenös verabreichtes Histamin in Minutenschnelle die Blutbahn verläßt und von den Geweben, zum Teil von den Nieren aufgenommen wird (Rose und Browne[14], Emmelin[15]); Dragstedt und Mead[16] zeigten, daß Histamin in einer Dosis von 0,5 mg/kg bei Hunden intravenös injiziert schon

nach 5 min nicht mehr biologisch nachweisbar ist. Falls unsere Rückschlüsse aus den Versuchen in vitro richtig sind, nämlich daß es sich bei den in vivo gewonnenen Ergebnissen um echte Histaminwirkungen handelt, so stehen wir vor großen Schwierigkeiten bei der Deutung der lang anhaltenden Wirkung des Histamins auf die Blutgerinnung. Daß es sich dabei um echte Histaminwirkungen handelt, geht auch indirekt daraus hervor, daß Antihistaminica diese Effekte verhindern. Denn nach Meier und Bucher[17] ist die antagonistische Wirkung gegenüber Histamin die pharmakologische Haupteigenschaft dieser Stoffe, und somit dürfte der obige Rückschluß erlaubt sein. Deshalb ist auch die Tatsache bedeutungsvoll, daß selbst 24 min nach Histamininjektion (i.m.) Antistin noch antagonistische Wirkungen entfalten kann. Da also feststehen dürfte, daß es sich um einen echten Histamineffekt handelt, sei noch

Tabelle 6.

Dosis in mg/kg	Maximaler Histamineffekt in % der Norm		Dosis in mg%
	in vivo	in vitro	
0,05	45,6 (i.v.) 42,3 (i.m.)	46,0	0,083
0,1	55,8 (i.m.)	63,0	0,167

an Hand von Tabelle 7 die einige der bereits erwähnten Ergebnisse einander gegenüberstellt, auf eine wichtige Tatsache hingewiesen. Diese Tabelle vergleicht in vivo- und in vitro-Wirkungen einander annähernd entsprechender Histaminkonzentrationen. Die Versuche in vitro zeitigten also fast denselben Effekt wie in vivo. Bezieht man jedoch das zeitliche Moment in die Betrachtung ein, so trifft man auf Deutungsschwierigkeiten. Für die Versuche in vitro kommt nämlich das Zeitmoment nicht in Frage, da sofort die Konzentration an Histamin vorhanden war, die die in der Tabelle 7 aufgeführten Wirkungen hervorbrachte. In vivo jedoch verstrich eine erhebliche Zeit, ehe das Wirkungsmaximum eintrat (Abb. 2, Kurve B). Wenn nun — das gilt besonders für die intravenöse Histamingabe — Histamin tatsächlich so schnell aus der Blutbahn in die Gewebe hinein eliminiert würde, könnte niemals eine Histaminkonzentration im Blute auftreten, die der in vitro entspricht. Wenn überhaupt, dann könnte man die optimale Konzentration im Blute nach intravenöser Injektion angesichts der schnellen Elimination nur unmittelbar nach der Injektion erwarten; dies war jedoch nie der Fall. Uns scheint jedoch folgender Deutungsversuch erlaubt zu sein: Blut enthält immer Histamin, jedoch ist der Histamingehalt des Plasmas gering, der größte Teil des Histamins findet sich in den Zellen (Code[18]) und zwar beim Kaninchen in den Thrombozyten (Zon, Ceder und

Crigler[19]). Da man annehmen muß, daß Histamin, das auf das Gerinnungssystem einwirkt, sich in seiner gesamten Menge auch während der Zeit bis zum Auftreten des Wirkungsmechanismus in der Blutbahn befindet und nicht in die Gewebe eintritt, um dann etwa allmählich wieder in das Blut überzugehen, so wäre es denkbar, daß das verabreichte Histamin beim Kaninchen erst einmal von den Thrombozyten aufgenommen wird; hatten doch Anrep, Barsoum, Talaat und Wieninger[20] gezeigt, daß künstlich zu Blut zugegebenes Histamin von den zelligen Elementen aufgenommen wird. Da es nach Gaddum[21] unwahrscheinlich ist, daß intravenös injiziertes Histamin durch Bindung an spezifische Rezeptoren aus der Blutbahn verschwindet und da ferner nach Phelps[22] nur die Histaminbase zu spezifischen Reaktionen fähig ist, eröffnet sich folgende Möglichkeit: Nach intravenöser Injektion wird der nicht sofort von den Gerinnungskomponenten gebundene, da nicht in Basenform vorliegende Anteil der Histaminmenge von zelligen Blutbestandteilen, etwa den Thrombozyten, aufgenommen; im weiteren Verlaufe stellt sich dann das gestörte Gleichgewicht in der Verteilung des Histamins auf Plasma und Blutzellen durch Abdiffusion von Histaminbase aus den Zellen und Bindung an die Gerinnungskomponenten wieder her. Für einen solchen Vorgang, der dem Massenwirkungsgesetz unterworfen sein würde, sprechen auch die Dosis-Wirkungskurven der Abb. 2.

Ob der normale Histamingehalt des Blutplasmas eine gewissermaßen physiologische beschleunigende Wirkung auf die Blutgerinnung ausübt, ist nicht bekannt. Der Gedanke liegt aber nahe angesichts der verzögernden Wirkung der Antihistaminica unter der Voraussetzung, daß diese durch die spezifische Antihistaminwirkung zustande kommt und nicht auf einer von der typischen Antihistaminwirkung unabhängigen Eigenwirkung der Moleküle beruht. Wegen der so verschiedenen Struktur des Antistin- und Neo-Anterganmoleküls bei gleichsinniger Wirkung der beiden Stoffe liegt jedoch die zweite Annahme ferner.

Sehr auffallend ist die relativ starke Verzögerung der Blutgerinnung bei einer bestimmten zeitlichen Kombination von Histamin mit Antistin (Abb. 3, Kurve C); entscheidend ist dabei wohl weniger der späte Zeitpunkt der Antistingabe (15 min nach Histamin) als vielmehr das dadurch innerhalb der Blutbahn herbeigeführte Mengenverhältnis zwischen Antistin und Histamin. Eine relative Überdosierung von Antistin kann nicht der Grund sein, denn dann hätte bei der Antistingabe 24 min nach Histamin erst recht eine Verzögerung der Blutgerinnung eintreten müssen.

Auch beim zellfreien Plasma des Kaninchens (im oben erwähnten Versuch) zeigte sich dieser Befund: Leerwert 180 sec, +Histamin 0,001 mol:138 sec, +Antistin 0,001 mol:177 sec, +Antistin +Histamin: **203** sec, +Histamin 0,001 mol +Antistin 0,0005 mol:180 sec. Dieses Ergebnis spricht wiederum dafür, daß eine bestimmte Mengenkorrelation Bedingung für das Zustandekommen der verlängernden Wirkung ist. Bei den menschlichen Plasmen zeigt Vp. 4 dieses Phänomen.

In noch nicht abgeschlossenen Versuchen bearbeiteten wir die Frage, ob die Blutgerinnungsbeschleunigung nach örtlicher Kälteschädigung durch Antistin beeinflußt werden kann; dies ist in der Tat der Fall. Auch hierbei zeigten sich bei bestimmten Dosierungen des Antistins nicht nur Aufhebung der beträchtlichen Gerinnungsbeschleunigung sondern erhebliche Verlängerungen der Blutgerinnungszeit (in einem Falle um 92% der Norm!).

Wie diese verlängernden Effekte zustandekommen, ist nicht klar; es scheint aber, als könnten sie nicht mit einer später noch zu besprechenden adsorptiven Verdrängung an den Mizellen der Gerinnungskomponenten erklärt werden. Dagegen muß die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß Antistin und Histamin sich bei einem bestimmten günstigen Mengenverhältnis etwa unter Mitwirkung eines Plasmabestandteiles zu einer Kombinationsverbindung vereinigen, die auf die Blutgerinnung verzögernd einwirkt.

Es ist eine bekannte Tatsache (siehe Astrup[23]), daß die Erhöhung der Molarität eines Gerinnungsansatzes mittels unspezifischer Moleküle (z. B. NaCl) die Gerinnungszeit verlängert. Da wir bei unseren Versuchen in vitro die Leerversuche mit Aqu. dest. an Stelle der zu prüfenden Lösungen ansetzten, wäre beim Ersatz des Aqu. dest. durch die Antistin- und Histaminlösungen prinzipiell eine Verlängerung der Gerinnungszeit zu erwarten gewesen. Die tatsächlich beobachteten Ergebnisse sprechen also für eine Spezifität der beobachteten Wirkungen.

Unsere Versuche scheinen einen Beitrag zu liefern zu der Theorie des Histamin-Antihistaminantagonismus vor allem deswegen, weil wir diesen Mechanismus auch in einem völlig zellfreien Milieu nachweisen konnten. Schließt doch Staub[24] aus seinen Versuchen zur Adrenalin-Histamin-Korrelation, daß Antistin den Aus- und Eintritt des Histamins aus und in die Zellen oder Zelloberflächen verhindert. Auch Halpern[25] vermutet, daß vorhandenes Histamin von den Wirkungsorten in den Zellen entweder ferngehalten oder verdrängt wird. Für unsere Versuche über den Antagonismus dieser Stoffe im zellfreien Plasma entfallen also solche Überlegungen. Halpern gibt jedoch noch folgende Möglichkeiten an: Hemmung der Histaminbildung und Beschleunigung der Histaminzerstörung. Der erste Punkt entfällt für unsere Versuche in vitro mit zellfreiem Plasma, der zweite könnte bedeutungsvoll sein, da nach Anrep, Barsoum und Ibrahim[26] Blut, Serum und Plasma des Kaninchens histaminolytische Fähigkeit besitzen. Da aber nach denselben Autoren menschliches Blut, Plasma oder Serum keine Histaminolyse zeigen (abgesehen vom 2. Schwangerschaftsmonat an), wir aber auch hierbei den Histamin-Antihistaminantagonismus fanden, dürfte auch diese Hypothese für unseren Fall an Bedeutung verlieren.

Vielmehr mag für die Deutung unserer Befunde im zellfreien Gerinnungsansatz die adsorptive Verdrängung des Histamins durch Antihistaminica an den Mizellen der Blutgerinnungskomponenten in Frage kommen, gleichviel an welchem Gliede des Gerinnungssystems diese Stoffe auch angreifen mögen. Daß Verdrängungserscheinungen an den Oberflächen von Mizellen möglich sind, zeigt die bekannte Tatsache der Narkotisierbarkeit gelöster Fermente entsprechend dem Gesetz der homologen Reihen (vgl. auch die Versuche von Schürmeyer[27] über die Narkotisierbarkeit der an Eiweiß adsorbierten Hefeinvertase). Auch die

Antihistaminica sind oberflächenaktiv, wie sich leicht durch Schütteln der Lösungen an Hand der Schaumbildung erkennen läßt; Histaminlösungen zeigen diese Erscheinungen nicht. Wenn auch Bucher[28] nach Versuchen am isolierten Meerschweinchendarm die Verdrängungstheorie der Antihistaminwirkung ablehnt, so mögen solche Überlegungen jedoch in unserem Falle am Platze sein.

Unsere Versuchsergebnisse stehen auch in Beziehung zur Frage der Thromboseentstehung und -bekämpfung. Die Bedeutung resorbierter Gewebszerfallsprodukte für die Entstehung von Thrombosen steht fest (Tannenberg und Fischer-Wasels[29]) und zwar nach klinischen und experimentell-pathologischen Untersuchungen; konnten doch Fellner[30], Voelker[31] und Bernheim[32] allein durch Injektion von Gewebsextrakten ohne gleichzeitige Schädigung der Gefäßwände Thrombosen herbeiführen. Da Histamin ein obligater Bestandteil roher Gewebsextrakte ist, muß in Zusammenhang mit unseren Versuchsergebnissen an Histamin als das wirksame Agens bei den Versuchen der oben zitierten Autoren gedacht werden. Von diesem Gesichtspunkt aus wäre die versuchsweise Anwendung der Antihistaminica zur Thromboseprophylaxe berechtigt.

Zusammenfassung.

1. Intravenöse, subkutane und intramuskuläre Histamininjektionen verkürzen die Abhängigkeit von der Dosis die Blutgerinnungszeit des Kaninchens erheblich; der Effekt dauert einige Stunden an.

2. Antistin vermindert diese Histaminwirkung oder wandelt sie in eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit um.

3. Antistin allein verlängert die Blutgerinnungszeit.

4. Auch am nativen Vollblut des Kaninchens in vitro sowie am menschlichen Blutplasma lassen sich diese Befunde erheben.

5. Neo-Antergan wirkt in vitro stärker als Antistin.

6. Die erhobenen Befunde werden diskutiert und zu der Frage der Thromboseentstehung und -prophylaxe in Beziehung gesetzt.

Literatur.

[1] Mantscheff: Bruns' Beitr. **174**, 337 (1943). — [2] Kahmann, A.: Inaug.-Diss. Kiel 1943. — [3] Ziemke, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **106**, 288 (1949). — [4] Barsoum, G. S., und I. H. Gaddum: „Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe", Leipzig 1936, S. 158. — [5] Ewig, W.: zit. nach Zinck, K. H.: „Path. Anatomie der Verbrennungen", Veröfftl. Konstitutions- u. Wehrpath. 46 (1940). — [6] Modrakowski, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **69**, 67 (1912). — [7] Smith, M. I.: J. of Immun. **5**, 239 (1920). — [8] Zopff, G.: Z. exper. Med. **81**, 534 (1932). — [9] Rabe, I.: Inaug.-Diss. Kiel 1950. — [10] Fleisch, A., und I. Tripod: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 118 (1942/43). — [11] Fleisch, A., und I. Posternak:

Helvet. physiol. Acta **1**, 199 (1943). — [12] Axmacher, F.: „Allgemeine Pharmakologie", Berlin 1938. — [13] Lenggenhager, K.: Schweiz. med. Wschr. **1936/II**, 1289. — [14] Rose, B., und I. S. L. Browne: Amer. J. Physiol. **124**, 412 (1938). — [15] Emmelin, N.: Acta physiol. scand. **11**, Suppl. 34 (1945). — [16] Dragstedt, C. A., und F. B. Mead: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **32**, 1435 (1935). — [17] Meier, R., und K. Bucher: Fortschr. Allergielehre **II**, 290 (1949). — [18] Code, C. F.: J. of Physiol. **89**, 257 (1937). — [19] Zon, L., E. T. Ceder und C. W. Crigler: Publ. Health Rep. **1939**, 1978. — [20] Anrep, G. V., G. F. Barsoum, M. Talaat und E. Wieninger: J. of Physiol. **96**, 130 (1939). — [21] Gaddum, I. H.: Brit. med. J. **1948**, 867. — [22] Phelps, H. I.: Biochem. J. **29**, 1034 (1935). — [23] Astrup, T.: Acta physiol. scand. **7**, Suppl. XXI (1944). — [24] Staub, H.: Helvet. physiol. Acta **4**, 539 (1946). — [25] Halpern, N.: Arch. internat. Pharmacodynamie **68**, 339 (1942). — [26] Anrep, G. V., G. S. Barsoum und A. Ibrahim: J. of Physiol. **106**, 379 (1947). — [27] Schürmeyer, A.: Pflügers Arch. **208**, 559 (1925). — [28] Bucher, K.: Helvet. physiol. Acta **7**, 315 (1949). — [29] Tannenberg, I., und B. Fischer-Wasels: Bethes Handb. Physiol., Berlin 1927 $V_{22}/2$, 1776. — [30] Fellner: Münch. med. Wschr. **1912**, 537. — [31] Voelker: Verhandl. d. dtsch. Ges. f. Chir., 43. Kongr. Berlin 1914; Zbl. Chir. **1914**, 3 (Beilage). — [32] Bernheim: J. Amer. med. Assoc. **1910**, Nr. 4; ref. Münch. med. Wschr. **1910**, 2490.

Dr. Gerhard Zetler, Kiel, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 30—36 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Untersuchungen über Papaverin-Karbonsäure.

Von

HELMUT KEWITZ.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. November 1950.)

I. Einleitung.

Seit den Arbeiten PALS[7] ist die spasmolytische Wirksamkeit des Papaverins experimentell gesichert. Dabei wird der vorwiegend muskuläre Angriffspunkt der Substanz heute wohl allgemein anerkannt. Da das Alkaloid verhältnismäßig ungiftig ist, so daß BOUCHUT[1] im Selbstversuch bis zu 1 g anstandslos vertragen hat, und außerdem fast keine unerwünschten Nebenwirkungen besitzt, wie z. B. Atropin in Form von Akkomodationslähmung und Trockenheit der Schleimhäute, war dem Papaverin seinerzeit ein bedeutender Platz in der Behandlung spastischer Zustände der glatten Muskulatur vorausgesagt worden. Das hat sich jedoch nicht bestätigt, denn die Wirkung ist erfahrungsgemäß recht unzuverlässig, besonders bei oraler Applikation. Teilweise mag dies an der mangelhaften Resorption und dem vollständigen Abbau im Organismus liegen.

ZAHN[13], der die Vorgänge an Hunden näher untersucht hat, fand nach subkutaner Injektion großer Dosen, nach denen die Tiere innerhalb 3—4 Std starben, weder in den Exkrementen noch in den Organen Papaverin oder Spaltprodukte desselben. Nach oraler Eingabe von 2,5 g ließen sich nach 4 Std 54% im Magen-Darminhalt nachweisen, während die Organe frei davon waren. Nur aus dem Pankreas waren Spuren des Mittels zu extrahieren.

Außerdem wirkt Papaverin beim Menschen offensichtlich anders als im Tierexperiment. Auch darauf hat schon PAL[7] aufmerksam gemacht. Er konnte den normalen menschlichen Blutdruck nicht herabsetzen, was bei allen Tierarten, die er untersucht hat, möglich gewesen ist.

In der Absicht die angeführten Mängel auszugleichen wurden im Laufe der Zeit eine Reihe von Derivaten hergestellt, untersucht und empfohlen. Wesentliche Fortschritte gegenüber dem Papaverin hat keines gebracht.

Im folgenden wird die pharmakologische Prüfung eines Karboxylderivates (1(3,4)-dimethoxybenzyl-6,7-dimethoxyisochinolin-3-Karbonsäure) geschildert, das von der Firma Riedel de Haën in Berlin-Britz hergestellt wurde. Die Säuregruppe am Papaverin sollte die Resorptionsbedingungen entscheidend verbessern.

II. Angewandte Substanzen und Methoden.

Die zu untersuchende Papaverinkarbonsäure (P.C.) stand als Natriumsalz in 5% Lösung zur Verfügung. Die Wirksamkeit wurde jeweils mit der einer 4%-Lösung des handelsüblichen Papaverin. sulf. (P.) verglichen.

Alle Tiere waren, bevor sie zur Untersuchung kamen, wenigstens 12 Std nicht gefüttert.

Toxizitätsbestimmungen wurden bei oraler, subkutaner und intravenöser Applikation an 15—20 g schweren Mäusen vorgenommen und die LD 50 nach dem von G. KÄRBER[3] angegebenen Verfahren berechnet.

Die Prüfung am isolierten Darm erfolgte nach der MAGNUS-Methode[5]. 300—400 g schwere Meerschweinchen wurden durch Nackenschlag getötet, sofort entblutet und 1,5—2 cm lange Dickdarmstückchen entnommen. Diese blieben so lange in körperwarmer RINGER-Lösung, bis sie sich entleert hatten. Das Versuchsgefäß faßte 20 cm^3. Als Nährlösung diente eine von MAGNUS angegebene RINGER-Lösung: 0,9% NaCl, 0,03% $NaHCO_3$, 0,024% $CaCl_2$ und 0,042% KCl. Das Bad wurde bei 37° gehalten und mit Sauerstoff durchperlt. Spasmen wurden durch Zusatz von 10^{-4} mol $BaCl_2$ oder 10^{-7} mol Doryl erzeugt.

In Ganztierversuchen an Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen wurden registriert: 1. die Dünn- oder Dickdarmtätigkeit mit der sogenannten Schornsteinmethode nach TRENDELENBURG[12] und 2. der Druck in der Arteria carotis mit einem Gummimembranmanometer, das zur Eichung im Nebenschluß mit einem Quecksilbermanometer verbunden war. Der Rattenblutdruck wurde mit dem Quecksilbermanometer direkt geschrieben. Sperrflüssigkeit war 10% Natrium citricum. Zusätzlich wurde der Blutgerinnung durch intravenöse Injektion von 3 mg/kg Heparin vorgebeugt. Die Tiere befanden sich in Narkose, die durch Urethan, das in 20%iger Lösung zu 1,2—1,5 g/kg subkutan injiziert, hervorgerufen war.

Zwecks anhaltender Blutdruckerhöhung wurden Suprareninlösungen 1:1000000 in 0,9% NaCl als Dauerinfusion verabfolgt. Die dazu benutzte mit einem Motor betriebene Spritze hat der Mechanikermeister des Institutes Herr Uhlig, angefertigt.

Zur Ausschaltung des Gehirns wurden einige Tiere nach C. S. SHERRINGTON[10] dekapitiert.

In einem Selbstversuch wurde der Blutdruck mit dem Apparat von RIVA-ROCCI und der Auskultationsmethode nach KOTKOW gemessen.

Die zu untersuchenden Pharmaka wurden in allen Fällen intravenös gegeben. Der Abstand zwischen zwei Zeitmarken beträgt auf allen Kurven 30 sec.

III. Versuchsergebnisse.

Toxizität: Bei intravenöser Anwendung betrug die LD 50 der P. C. an weißen Mäusen 200 mg/kg, bei subkutaner 225 mg/kg und bei oraler 260 mg/kg.

Die Vergiftung äußerte sich dadurch, daß die Tiere zunächst schläfrig wurden. Nach 30—60 min krochen sie, falls man sie reizte, nur noch auf dem Bauch herum, wurden allmählich kraftlos und starben häufig nach einem leichten Anfall klonischer Zuckungen der Extremitäten.

Untersuchungen am isolierten Darm: Am isolierten Meerschweinchendarm verhielten sich die Konzentrationen von P. und P. C. bei gleicher Wirkungsstärke wie 1:10. Qualitative Unterschiede ließen sich nicht

feststellen. Als Beispiel zeigt Abb. 1 die Tonusabnahme eines mit Doryl erregten Darmstückes auf 10^{-4} P.C. und 10^{-5} P. Sehr ähnliche Kurven entstanden bei ebensolcher Dosierung am nicht vorbehandelten und am durch $BaCl_2$ erregten Darm.

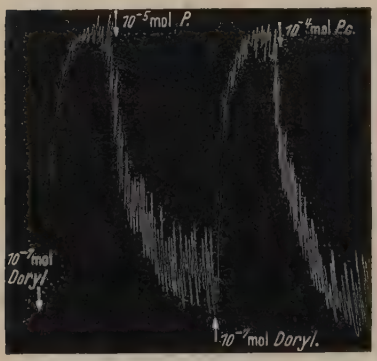


Abb. 1.

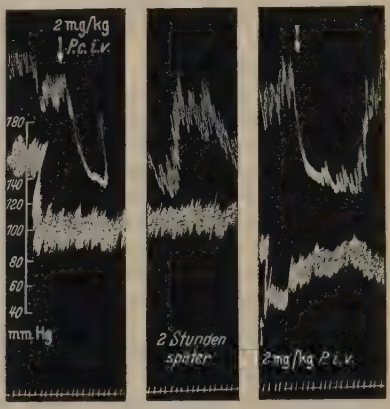


Abb. 2.

Abb. 1. Meerschweinchen-Dickdarm, isoliert. Kontraktionszustand durch 10^{-7}/mol Doryl. 1. 10^{-5}/mol Papaverin. sulf. 2. 10^{-4}/mol Papaverin-karbonsäure.

Abb. 2. Katze, 3,1 kg. Urethannarkose. Obere Kurve: Dünndarm (Schornsteinmethode). Untere Kurve: Karotisdruck. 1. 2 mg/kg Papaverin-Karbonsäure i.v. 2. 2 mg/kg Papaverin. sulf. i.v.

Untersuchungen am Darm in vivo: Aus den angestellten Ganztierversuchen waren nicht so klare Mengenverhältnisse abzulesen. Eindeutig erforderte aber auch hier P.C. größere Dosen als P. mit einer erheblichen Variationsbreite von Tier zu Tier und von Art zu Art.

Zu etwa gleichstarker Tonussenkung des Kaninchen-Dickdarms wurde von der P.C. etwa das Doppelte der P.-Dosis gebraucht.

Am Meerschweinchendickdarm wirkten 10 mg/kg P.C. nicht ganz so intensiv wie 2 mg/kg P. Der Rattendünndarm erschlaffte nach 20 mg/kg P.C. halb so stark wie nach 2 mg/kg P.

Bei Katzen boten sich, Abb. 2 entsprechend, bei gleicher Dosierung etwa gleiche Wirkungsintensitäten. Die Dauer der Wirkung erstreckte sich auf 5—15 min wobei die der P.C. stets etwas länger anhielt.

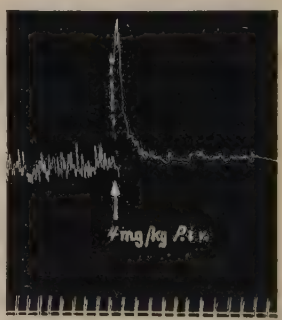


Abb. 3. Meerschweinchen-Dünndarm in situ (Schornsteinmethode). 4 mg/kg Papaverin. sulf.

Hier möchte ich erwähnen, daß ich an Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten einige Male vom P. auch den Darmtonus erhöhende Effekte beobachtete. Ein Beispiel bietet die Kurve in Abb. 3, die am Meerschweinchendarm gewonnen wurde.

Blutdruckversuche: Im Gegensatz zu den Ergebnissen am Darm fand ich bei Blutdruckmessungen keinen Wirkungsverlust der P.C. gegenüber dem P. Gleiche Dosen der beiden Pharmaka erzeugten einen sofortigen und etwa gleich starken Blutdruckabfall, der sich aber nach P.C. über 2—8 Std hinzog, während er nach P. bereits 7—15 min später beendet war. Abb. 2 gibt eine an der Katze gemessene Kurve wieder. 2 mg/kg P.C. wurden mit 2 mg/kg P. verglichen. Die Senkung ist prozentual gleich und beträgt etwa $^1/_3$ des Ausgangswertes. Kaninchen erforderten höhere Dosen (3—5 mg) und antworteten auf P.C. mit bis zu 8 Std anhaltenden Wirkungen.

Ratten reagierten auf 2 mg/kg mit einer 40—50%igen Blutdrucksenkung, die im allgemeinen nach 1 Std vorüber war.

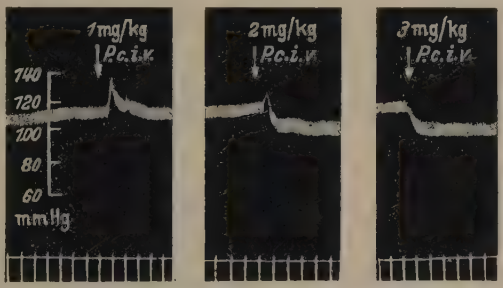


Abb. 4. Kaninchenblutdruck. 1. 1 mg/kg Papaverin-Karbonsäure i.v. 2. 2 mg/kg Papaverin-Karbonsäure i.v. 3. 3 mg/kg Papaverin-Karbonsäure i.v.

Um den Einfluß auf den erhöhten Blutdruck kennenzulernen, wurde einigen Kaninchen ein intravenöser Suprarenin-Dauertropfeinlauf mit etwa 12,5 γ/min angelegt. Der Blutdruck stieg dadurch um etwa 20%. 5 mg/kg P.C. senkten ihn um 30—35%.

Nach Absetzen des Suprarenins fiel die Spannung um weitere 30% und blieb dann über Stunden konstant.

Wie am Darm traten gelegentlich auch am Blutdruck nach P. entgegengesetzte Wirkungen auf. Einer anfänglichen kurzen Senkung folgte dann eine deutliche manchmal sogar stärkere Steigerung. Am Darm beobachtete ich solche stimulierenden Effekte nur nach P., hier auch nach P.C. Aus Abb. 4 ist die Abhängigkeit der Wirkungsrichtung von der Dosis abzulesen. 1 mg/kg P.C. erhöhte den Druck für einige Minuten. 2 mg/kg steigerten ihn weniger ausgeprägt, senkten aber anschließend für 30 min, und 3 mg/kg erzeugten nur noch einen Abfall, der 45 min anhielt. Allerdings konnte diese Anordnung inverser Wirkungen nicht reproduziert werden. Es lag nicht im Rahmen der Arbeit das Problem näher zu untersuchen.

Um etwaige für die blutdrucksenkende Wirkung verantwortliche Angriffspunkte im ZNS auszuschalten, untersuchte ich einige Tiere in dekapitiertem Zustand. Die Ergebnisse entsprachen völlig denen am intakten Tier.

Da die beschriebene Blutdruckwirkung bei allen verwendeten Tierarten auftrat, schien ein grob orientierender Versuch am Menschen lohnend. Einem gesunden 30jährigen Mann von 65 kg mit einem Ausgangsblutdruck von 120/75 nach Riva-Rocci und einer Pulsfrequenz von 76/min wurden bis zu 500 mg = 8,25 mg/kg P. C. langsam intravenös appliziert. An dem im Abstand von 3—5 min gemessenen Blutdruck und der Pulsfrequenz änderte sich zunächst nichts. Das subjektive Befinden bleib gleich. Nach 1½ Std stellten sich allmählich zunehmende druckartige Kopfschmerzen ein, ohne besondere Lokalisation. Es traten bei unveränderter Körpertemperatur ein leichtes Fröstelgefühl und Benommenheit auf. Der Blutdruck war zu der Zeit auf 150/95 gestiegen, die Pulsfrequenz betrug 75/min. 30 min später wurden wieder normale Blutdruckwerte gemessen und nach 6 Std waren auch die subjektiven Beschwerden abgeklungen.

IV. Diskussion.

Durch die Einführung einer Karboxylgruppe in C_3-Stellung am Isochinolinring des Papaverins wird die spasmolytische Wirkung auf den Darm verringert und auf die Gefäße wesentlich verlängert, aber in ihrem Charakter nicht verändert. Man könnte daraus schließen, daß die Bezeichnung „glatte Muskulatur" wohl ein morphologisch aber nicht ein funktionell einheitliches Gewebe umfaßt. Es wäre auch möglich, daß der Angriffspunkt beider Substanzen nicht nur in der Muskelzelle selbst liegt, sondern wenigstens teilweise am muralen Nervensystem. Denn hier zeigen sich Organspezifitäten schon durch die Verschiedenartigkeit der spontanen Bewegungen isolierter Darm- und Gefäßstreifen.

Am isolierten Darm verhalten sich die gleich wirksamen Dosen von P. und P.C. wie 1:10. In vivo verschieben sich diese Größen wechselnd von Individuum zu Individuum und von Art zu Art etwas zugunsten der P. C. Mercier, Mercier und Sestier[6] arbeiteten ebenfalls mit der P. C. am isolierten Organ, verglichen aber lediglich die Konzentrationen von 1:50000 mit genauso dosiertem P. Sie fanden dabei keine spasmolytische Wirkung. Das kann hiermit bestätigt werden, denn die wirksamen Konzentrationen beginnen bei etwa 1:10000.

Das Bemerkenswerteste an den mitgeteilten Beobachtungen ist die über mehrere Stunden anhaltende blutdrucksenkende Wirkung der P. C. Dadurch könnte sie für die Behandlung der weit verbreiteten Hochdruck-

krankheit Bedeutung erlangen. Dazu wäre allerdings eine Bestätigung der hier beim Tier beschriebenen Wirkungen am Menschen notwendig. Die relativ große Spanne zwischen bereits wirksamer und toxischer Dosis dürfte eine solche Prüfung gefahrlos erscheinen lassen. Das eine am Menschen durchgeführte Experiment hätte nur im Falle eines positiven Ergebnisses, das jedoch nicht eintrat, Bedeutung erlangt. Außerdem wäre es möglich, daß die spastisch kontrahierte Gefäßwand günstiger anspricht.

Pal[7] hat dies vom P. behauptet, weil er, wenn überhaupt, dann nur bei Hypertonikern Blutdrucksenkung hervorrufen konnte, und zwar vorwiegend bei latenten Blutdruckerhöhungen. Rosenow[9] hat diese Angaben bestätigt, aber außerdem Blutdrucksteigerungen nach P. beschrieben. Ähnliches sah, genau wie ich, in einigen von vielen Experimenten J. Kreye[4] an der Katze. Er erklärte das Phänomen mit einer verbesserten Herzarbeit, die durch Erweiterung der Koronararterien bedingt sein soll. Jedoch hat Ther[11] über inverse P.-Wirkungen am isolierten Darm berichtet. Er konnte sie regelmäßig auslösen, wenn er das Präparat mehrere Stunden vorher in $BaCl_2$-haltiger Tyrodelösung aufbewahrte. Ich beobachtete stimulierende Darmeffekte auch am Ganztier. Und nach Angaben von Plant und Miller[8] soll das P. auf den Dünndarm des nicht narkotisierten Hundes sogar ausschließlich tonussteigernd wirken.

Somit ist wohl anzunehmen, daß P. und ebenso P. C. unter bestimmten, noch unbekannten Bedingungen einen stimulierenden Einfluß auf die glatte Muskulatur ausüben können. Darüber hinaus darf nicht vergessen werden, wie groß die Unterschiede in der Empfindlichkeit der Individuen und der Arten sind. Leider haften diese für die Therapie unangenehmen Eigenschaften auch der P. C. an, die in bezug auf die Resorption vom Magen-Darmkanal anscheinend einen Fortschritt bedeutet. Das geht aus den tödlichen Dosen hervor, die sich mit 200, 225 und 260 mg/kg für intravenöse, subkutane und orale Gabe nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Für P. fand v. Issekutz 160 mg/kg Maus subcutan sicher tödlich.

Zusammenfassung.

1. Die pharmakologische Untersuchung des Natriumsalzes der 3-4-Dimethoxybenzyl-6-7-Dimethoxyisochinolin-3-Karbonsäure (P. C.) ergab im Vergleich mit Papaverin (P.) einen erheblichen Verlust der spasmolytischen Wirksamkeit auf den Darm in vitro und in vivo.

2. P. C. wird anscheinend vollständig aus dem Magen-Darmtraktus resorbiert.

3. Am Blutdruck führte P. C. zu einer wesentlich länger anhaltenden Senkung als P.

4. Dem P. sowie der P. C. kommt unter gewissen noch unbekannten Bedingungen eine die glatte Muskulatur erregende Wirkung zu.

5. Die LD 50 der P.C. beträgt an weißen Mäusen bei intravenöser Applikation 200 mg/kg, bei subkutaner 225 mg/kg und bei oraler 260 mg/kg.

6. In einem einmaligen Selbstversuch wurde nach 500 mg intravenös eine $1\frac{1}{2}$ Std später auftretende Blutdrucksteigerung beobachtet.

Literatur.

[1] Bouchut: zit. in Heffters Handbuch der exper. Pharmakologie, Berlin: Springer 1924 II, 2, 996, C. r. de l'Academ. des Sciences (1872), 289 u. 337. — [2] Issekutz: zit. in Heffters Handbuch der exper. Pharmakologie, Berlin: Springer 1924, II, 2, 998. — [3] Kärber, G.: zit. in Ther: Pharmakologische Methoden, 78. Stuttgart 1949. — [4] Kreye, J.: Dissert. Kiel 1936. — [5] Magnus: Pflügers Arch. **102**, 123. — [6] Mercier, F., J. Mercier und M. Sestier: Soc. Biol. Filial. **123**, 1/2, S. 92. — [7] Pal: Wien. med. Wschr. **1913**, 1050 u. 2513. — [8] Plant und Miller: J. of Pharmacol. **27**, 361. — [9] Rosenow: Z. exper. Med. **10**, 333. — [10] Sherrington: zit. in Ther: Pharmakologische Methoden, Stuttgart 1949, 376. — [11] Ther: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 98 (1947). — [12] Trendelenburg: zit. in Ther: Pharmakologische Methoden, Stuttgart 1949, 285. — [13] Zahn: Biochem. Z. **68**, 444.

Dr. Helmut Kewitz, Berlin-Dahlem, Thielallee 69/73, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 37—43 (1951).

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg
(Vorstand Prof. Dr. Berth. Mueller).

Alkoholintoxikation und Atemalkohol.

Von
P. Seifert und H. Günther.

Mit 1 Textabbildung.

(*Eingegangen am 4. Oktober 1950.*)

Die souveräne Methode zur Bestimmung des Grades einer Alkohol-Intoxikation ist bis heute trotz ihrer Unspezifität immer noch die Widmark-Methode der Alkoholbestimmung im Blute. So sicher diese Methode zur Beurteilung des Trunkenheitsgrades auch sein mag, so ist sie doch überall dort nicht anwendbar, wo das Recht von der Unverletzlichkeit der Person die Behörden daran hindert, eine Blutentnahme zu erzwingen. Mit steigender Motorisierung in aller Welt und damit der immer größeren Häufung des Deliktes „Trunkenheit am Steuer" wurde die Frage nach neuen Methoden zur Objektivierung einer Alkoholbeeinflussung immer dringender. Es wurden so, namentlich in Amerika, Methoden entwickelt, die den Grad einer Alkohol-Intoxikation aus dem Alkoholgehalt der Atemluft bestimmen.

Die mit der Exspirationsluft ausgeschiedene Alkoholmenge ist unbedeutend gegenüber der Menge Alkohol, die oxydiert wird (etwa 90%). Bis zu 7% des einverleibten Alkohols können mit der Atemluft ausgeschieden werden[3]. Mit steigendem Atemvolumen wird dieser Anteil noch erhöht, d. h. jeder mit einer Hyperventilation einhergehende Zustand, wie z. B. starke Muskelarbeit, kann die mit der Atemluft ausgeschiedene Alkoholmenge erhöhen[6, 8, 12]). Die Alkoholabgabe vom Blut an die Luft in den Lungenalveolen ist ein einfacher Diffusionsvorgang[14,7], so daß auch der umgekehrte Vorgang, das Eindringen von Alkohol ins Blut beim Einatmen alkoholhaltiger Dämpfe, möglich ist[5, 15]. Da der Alkoholgehalt des Blutes für den Alkoholgehalt des Gehirnes und damit für den Berauschungsgrad maßgebend ist, war die Feststellung wichtig, wonach der Alkoholgehalt der Atemluft proportional dem Blut-Alkohol ist [10, 14]. Je höher demnach die zugeführte Alkoholmenge, um so höher ist nicht nur der Blut-Alkohol, sondern auch der Atem-Alkohol.

Auf die praktische Unmöglichkeit, aus dem Phänomen „Alkoholgeruch in der Atemluft", der in allen Fällen gar keinen Alkohol, sondern nur aromatische Ingredienzien alkoholischer Getränke oder Abbauprodukte des Alkohols erkennen läßt, auch nur eine annähernde Beurteilung des Grades einer Alkohol-Intoxikation vorzunehmen, sei hier nur hingewiesen[3, 4, 18, 13]. Die Methodik der Atem-Alkohol-

Bestimmung geht bereits auf Arbeiten von Binz[1], Bodlaender[2] und Strassmann[17] zurück. In Nordamerika wird heute der Atemalkohol mit dem „Drunkometer" nach Harger und Mitarb.[11] sowie dem „Alcometer" nach Haggard und Greenberg[8, 9, 10] bestimmt.

Beim „Alcometer" handelt es sich um einen vollautomatisch arbeitenden Apparat, in den die auf ihren Intoxikationsgrad zu untersuchende Person atmen muß. Die Atemluft, von der jeweils 30 cm^3 analysiert werden, wird mit Jodpentoxyd in Verbindung gebracht, aus dem eine dem Alkoholgehalt äquivalente Jodmenge in Freiheit gesetzt wird. Das freigemachte Jod wird in ein Teströhrchen übergetrieben und die dort mit Stärke entstehende Blaufärbung photoelektrisch kolorimetriert. Die Ablesung erfolgt nach relativ kurzer Zeit an einer in Prozent Blut-Alkohol geeichten Skala. Azeton wird nicht angezeigt.

Experimenteller Teil.

Bedenklich erscheint, daß bei dem zweifellos gut durchdachten und durchkonstruierten „Alcometer" nur je 30 cm^3 Atemluft analysiert werden. In dem von uns angegebenen und im weiteren beschriebenen Prinzip wird nicht der von einer bestimmten Luftmenge gegebene Umschlag eines Reagenses bestimmt, sondern es wird in einfacher Weise die Luftmenge gemessen, die bis zum Umschlag eines Indikatorreagenses geatmet wurde. Wir haben dieses Vorgehen in zahlreichen Modellversuchen und anschließenden Trinkversuchen an Studenten auf seine Brauchbarkeit untersucht. Die Versuchsperson muß in ein System von durchatmeten Waschflaschen, deren Absorptionsgefäß durch Hahn am Boden und eingeschliffenen Stöpsel für Füllung und Entleerung geeignet ist, solange hineinatmen, bis eine Standardlösung von $KMnO_4$[11] eben entfärbt wird, wonach der Untersucher am Spirometer lediglich die geatmete Luftmenge abzulesen hat. Da die vorgelegte $KMnO_4$-Menge immer konstant gehalten wird, ist die am Spirometer abgelesene Atemluftmenge ein direktes Maß für die Alkoholmenge, die in der Atemluft vorhanden war, und zwar ist diese um so größer, je weniger Alkohol die Atemluft enthielt. Dieses methodische Prinzip hat die folgenden 2 Vorteile: 1. Die Messung des Luftvolumens *nach* der Reaktion des Alkohols mit dem Permanganat beseitigt Fehlerquellen, die durch Kondensation von Alkohol in den Meßgeräten entstehen können. 2. Es ist nur eine messende Größe, nämlich die einfach abzulesende Atemluftmenge zu bestimmen.

In einer Reihe von Modellversuchen wurden zunächst die optimalen Bedingungen der Apparatur ermittelt. Als Indikatorlösung erwies sich eine Mischung von 1 cm^3 einer n/20 $KMnO_4$-Lösung mit 10 cm^3 55%iger H_2SO_4[11] als geeignet. Es wurde ermittelt, daß etwa $^1/_6$ des in der Atemluft vorhandenen Alkohols an der Reaktion nicht teilhat. Die normale Atemluft ergab erst nach 25 l geatmeter Luft eine minimale Farbabschwächung der Indikatorlösung, d. h. sie ist praktisch frei von

permanganatreduzierenden Substanzen. Eine um das 400fach höhere Konzentration an Azeton in Versuchslösungen durch die geblasen wurde, ergab den gleichen reduzierenden Effekt, wie eine $1^0/_{00}$ige Alkohollösung, d. h. Azeton in der Atemluft stört die Reaktion praktisch nicht. Auch die Atemluft unmittelbar nach der In- und Exhalation von Tabakrauch erwies sich als praktisch frei von permanganatreduzierenden Substanzen. Nur Tabakrauch direkt ergab einen starken reduzierenden Effekt.

Um Beziehungen zwischen Atem- und Blut-Alkohol aufzustellen, wurden 6 Alkohol-Trinkversuche angestellt und über 6—7 Std nach Einverleibung des Alkohols sowohl Blut- als auch Atem-Alkohol-Bestimmungen durchgeführt. Um einen möglichst hohen Blut-Alkoholgehalt zu erzielen, wurde von den Versuchspersonen (Studenten) 1—4 mehr als 1,2 g Alkohol pro Kilogramm Körpergewicht verabfolgt, der innerhalb von 30 min getrunken wurde. Versuchsperson 5 und 6 erhielten Süßwein. Zur Vermeidung von Fehlern, die durch im Munde verbliebenen Alkohol verursacht werden können[4] wurde mindestens 15 min nach Zufuhr der gesamten Alkoholmenge gewartet, bevor die erste Atem-Alkohol-Bestimmung durchgeführt wurde. Halbstündlich, später nur noch stündlich und gegen Ende zweistündlich wird gleichzeitig Blut aus der Fingerbeere zur Blut-Alkohol-Bestimmung nach Widmark entnommen. Die Versuche wurden solange fortgesetzt, bis das am Spirometer abgelesene Atemvolumen mehr als 2 l betrug, was als Zeichen dafür gilt, daß nur noch sehr wenig Alkohol mit der Atemluft ausgeschieden wird.

Eine Differenz im Alkoholgehalt der Exspirations- und Alveolarluft, die nach Haldane und Priestley[16] gewonnen wurde, sahen wir nicht, wahrscheinlich weil infolge des langsam erfolgenden Atmens in die Apparatur sich bereits ein Gleichgewicht zwischen Alveolar- und Exspirationsluft einstellen kann oder aber die Methode an sich zu grob ist, um diese feinere Differenzierung noch zu erfassen.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der Blutalkohol- und Atem-Alkohol-Befunde wurden in Abhängigkeit von der Zeit nach Zufuhr des Alkohols kurvenmäßig dargestellt (Abb. 1) .Der Verlauf der Blut-Alkohol- wie auch der Atem-Alkohol-Kurve ist besonders in III, IV und V von einer schönen Regelmäßigkeit. Das Maximum der Blut-Alkohol-Kurve fällt in jedem Falle ungefähr mit dem Minimum der Atemkurve zusammen.

Mit dem Abfall der Blut-Alkohol-Kurve steigt in gleichem Maße die Atemkurve an. Zeichnet man die Kurve der geatmeten Luftvolumina aus Versuch 4 mit umgekehrtem Maßstab ein, wie dies in VIII geschehen ist, so ergibt sich eine annähernde Parallelität zwischen der Blut-Alkohol-Kurve und Atemalkoholkurve. Diese Parallelität der reziproken Kurven ist eine Bestätigung dafür, daß Blut- und Atem-Alkohol einander parallel gehen. Diese Parallelität geht aber nur bis zu einem gewissen Punkte der Blut-Alkohol-Kurve, von wo ab die Atemkurve nicht mehr im gleichen Maße ansteigt, wie die Blut-Alkohol-Kurve abfällt, sondern wesentlich steiler ansteigt. Der steilere Anstieg der Atemkurve beginnt in unseren Versuchen

bei einem Blut-Alkohol-Wert von 0,4—0,6‰. Der Schnittpunkt der Blut-Alkohol- und Atem-Alkohol-Kurven liegt bei allen Versuchen in der Höhe von 0,8—0,9‰ Blut-Alkohol oder 0,8—0,9 l Atemluft, ein schönes Beispiel für die Konstanz der Relation von Blut-Alkohol zum Atem-Alkohol. Einem Blut-Alkohol-Wert von 0,8—0,9‰ entspricht demnach unter den Bedingungen unserer Methode ein

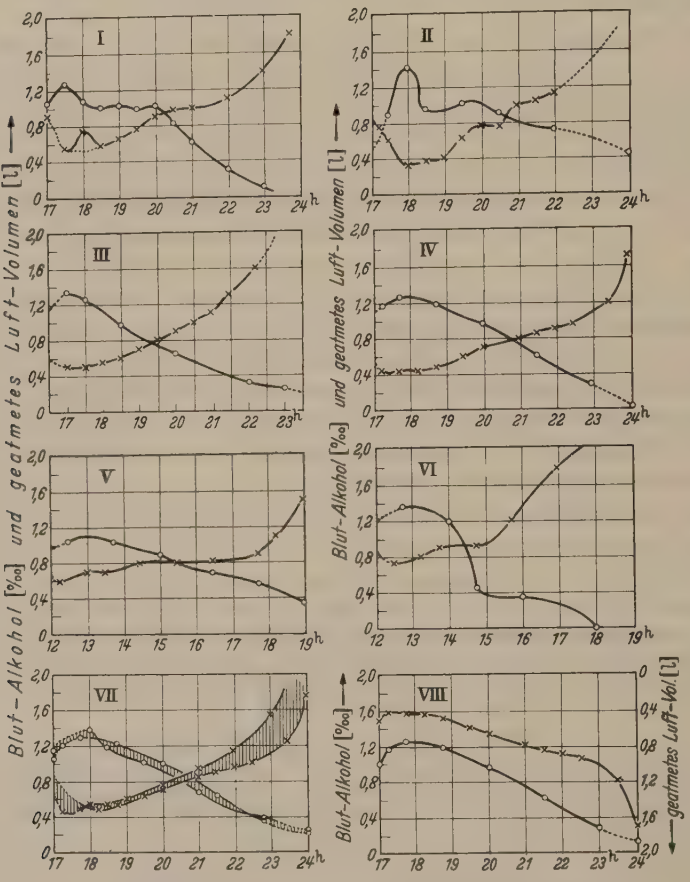


Abb. 1. Kurvenbilder der Trinkversuche. Abszisse: Uhrzeit; Ordinate: Atemluft in Liter, 0,0—2,0 und Blut-Alkohol-Gehalt in Promille, 0,0—2,0; × —— × = Atemkurve; ○——○ = Blut-Alkohol-Kurve; I—IV = Kurvenbilder des Blut-Alkohols und der Atemluftmenge aus den Trinkversuchen I—VI. VII = Kurvenbilder III und IV übereinanderprojiziert; VIII = Kurvenbild aus Trinkversuch IV mit reziproker Atemluftmenge als Ordinate.

Atemvolumen von 0,8—0,9 l. Zeichnet man Kurven III und IV in das gleiche Koordinatensystem ein, wie dies in VII geschehen ist, so projizieren sich die beiden Blut-Alkohol- und auch Atem-Alkohol-Kurven annähernd übereinander.

Daraus ergibt sich, daß mit dem angegebenen methodischen Prinzip durchaus eine Standardkurve aufgestellt werden kann, mit deren Hilfe man zu jedem ermittelten Atem-Alkohol-Wert den zugehörigen Blut-

Alkohol-Wert und somit den Grad der Alkoholintoxikation ablesen kann. Es besteht hier nur die Schwierigkeit, daß man im Experiment Blut-Alkohol-Werte über $1{,}2‰$ — im besten Fall erhielten wir einen Wert von $1{,}4‰$ — nur schwer erzielen kann, so daß die Abhängigkeit der Blut-Alkohol-Kurve und Atemkurve bei höheren Werten noch offen bleiben muß. Sie könnte durch in praxi vorkommende Fälle von höheren Trunkenheitsgraden mit der Zeit erweitert werden. Somit wäre eine einfache und bequeme Bestimmung des Grades einer Alkoholintoxikation ohne die Entnahme von Blut möglich.

Da 1 cm³ des vorgelegten Reagenses (n/20 $KMnO_4$) von 0,175 mg Alkohol entfärbt wird, haben wir die Ergebnisse der Kurven III, IV und V einer rechnerischen Kontrolle unterzogen, um die für unser Prinzip maßgebliche absolute Beziehung zwischen Blut-Alkohol und Atem-Alkohol zu ermitteln. Wenn 1 cm³ n/20 $KMnO_4$ von 0,175 mg A. entfärbt wird, so bedeutet das, daß in jedem Luftvolumen, das aus der Atemkurve abgelesen wird, jeweils 0,175 mg A. enthalten ist, weil ja in jedem Falle solange in das System geatmet wird, bis vollständige Entfärbung eingetreten ist. Aus der Atemkurve IV um 17.45 Uhr liest man z. B. ab, daß in 450 cm³ Luft 0,175 mg A. enthalten war. Demnach enthält 1 cm³ Luft $\frac{0{,}175}{450}$ mg A. Die dazugehörigen A.-Werte des Blutes waren 1,22 — 1,25 — 1,23 im Mittel $1{,}23‰$ oder 1,23 mg A. pro cm³ Blut. Der Quotient $\frac{1{,}23 \cdot 450}{0{,}175} = 3170$ gibt demnach an, wieviel Kubikzentimeter Luft die gleiche A.-Menge enthalten wie 1 cm³ Blut. In Tab. 1 wurden nach dem gleichen Verfahren außerdem die Atemvolumina von 600, 800, 1000 und 1200 cm³ der Atemkurven III, IV und V derselben rechnerischen Prüfung unterzogen. Die relativ gute Übereinstimmung der Atem-Alkohol: Blut-Alkohol-Quotienten für die 5 verschiedenen Punkte der Atem-Alkohol-Kurven III, IV und V kann als Beweis dafür angesehen werden, daß das angegebene methodische Prinzip zur Zufriedenheit arbeitet. Als mittleren Wert der Atemluft in Kubikzentimeter, die ebensoviel Alkohol enthält wie 1 cm³ Blut, finden wir demnach 3286. Berücksichtigt man den Befund von weiter oben, wonach $^1/_6$ des Alkohols der Atemluft von der Methode nicht erfaßt wird, so vermindert sich dieser Betrag auf 2738. Dieser von uns ermittelte Verteilungskoeffizient des Alkohols in Blut und Atemluft (1:2738) liegt demnach niedriger als der von Haggard und Mitarbeiter (1:1300)[10] und der von Liljestrand-Linde (1:2000)[14]. Die Verschiedenheit dieser Koeffizienten dürften u. E. nicht nur methodisch bedingt sein, sondern auch von einer Reihe anderer Faktoren abhängig sein, wie Schnelligkeit des Atmens, Tiefe der Exspiration, Widerstand der Apparatur u. a., die nicht immer konstant zu halten sind.

Die Ermittlung des absoluten Koeffizienten Atem-Alkohol: Blut-Alkohol gestattet uns über den Ausscheidungsmechanismus des Alkohols durch die Lunge genauere Aussagen zu machen. Diejenige Blutmenge in Kubikzentimeter, die in 1 min durch Abrauchen in der Lunge von ihrem Alkohol-Gehalt befreit (engl. „cleared") wird, möchten wir als die „Alkohol-Clearence" der Lunge bezeichnen. Legt man den von uns ermittelten Koeffizienten von 1:2738 zugrunde, so würde die Alkohol-Clearence der Lunge unter physiologischen Bedingungen, d. h. unter der Annahme eines Minutenvolumens von rd. 10 l (die Bestimmung müßte in jedem Fall exakt durchgeführt werden) 10000:2738 = 3,65 betragen, d. h. in 1 min würden 3,65 cm³ Blut durch Abatmen von ihrem Alkoholgehalt befreit werden. Unsere eigenen Untersuchungen und auch die anderer Autoren[3, 4, 19]

sprechen dafür, daß der Atem-Alkohol erst oberhalb einer bestimmten Blut-Alkohol-Konz. eine konstante Beziehung zu letzterer annimmt. Das würde der „augmentation limit" entsprechen, d. h. der Blut-Alkohol-Konz., oberhalb der der Koeffizient Blut-Alkohol: Atem-Alkohol stets ein konstanter ist, während unterhalb dieser die Alkoholausscheidung mit der Atemluft relativ zum Blut-Alkohol-Wert geringer ist, mit steigendem Blut-Alkohol-Wert aber dem konstanten Clearence-Koeffizienten zustrebt. Für das Vorliegen dieser „augmentation limit" spricht das bereits weiter oben diskutierte auffällige Steilerwerden der aufsteigenden Kurve der Atemvolumina von einem bestimmten Blut-Alkohol-Wert an, was besonders eindrucksvoll im Kurvenbild VIII mit reziproken Maßstäben für Blut-Alkohol und Atemluft ersichtlich wird, wo die Kurve der Atemvolumina von einem zugehörigen Blut-Alkohol-Wert von etwa 0,4—0,6‰ an wesentlich steiler abfällt als das entsprechende Stück der Blut-Alkohol-Kurve. Als Ursache für das Bestehen dieser „augmentation limit" glauben wir annehmen zu können, daß bei einer bestimmten Höhe der Blut-Alkohol-Konz. (eben der „augmentation limit") der endogene Abbau des Alkohols sein Maximum erreicht hat und somit dessen Konkurrenz zur Diffusion in die Alveolarluft in Fortfall kommt.

Tabelle 1.

Atem-Alkohol: Blut-Alkohol-Koeffizienten aus den Alkohol-Trinkversuchen 3, 4 und 5.

Atemluft in cm³	Blutalkoholwert in ‰	Kubikzentimeter Luft, die gleiche Alkoholmenge enthält wie 1 cm³ Blut
450	K_3 kein Wert K_4 1,22 — 1,25 — 1,25 K_5 kein Wert	3170
600	K_3 0,97 K_4 1,05 K_5 1,05 (Mittel 1,02)	3500
800	K_3 0,77 K_4 0,72 K_5 0,96—0,81 (Mittel 0,82)	3710
1000	K_3 0,55 K_5 0,51 (Mittel 0,53)	3030
1200	K_3 0,42 K_5 0,45 (Mittel 0,44)	3020

Trotz des Schlußwortes in der Arbeit von Haggard und Mitarbeiter[10] „Die heute gebräuchlichen Methoden zur Alkoholbestimmung in der Atemluft haben schwere Fehler", und wenn auch Erfahrungen mit dem „Alkometer" noch ausstehen, so glauben wir doch, daß die Bestimmung des Grades einer Alkoholintoxikation aus dem Atem-Alkohol durchaus möglich ist. Das von uns angegebene Prinzip ist zwar für die praktischen Belange vorläufig noch nicht anwendbar, erwies sich aber als durchaus geeignet, in einfacher Weise ohne besonderen apparativen Aufwand Untersuchungen über die Relation von Blut- und Atem-Alkohol zu ermöglichen.

Zusammenfassung.

Es wird ein einfaches methodisches Prinzip der Alkoholbestimmung in der Atemluft beschrieben, für das in einer Reihe von Vorversuchen zunächst die optimalen Bedingungen ermittelt werden. Als einzige variable Größe wird das beim Umschlag einer Indikatorlösung geatmete Luftvolumen bestimmt. In 6 Alkohol-Trinkversuchen wird dann die praktische Anwendbarkeit erprobt. Der Vergleich der Atemluftkurven mit den zugehörigen Blut-Alkohol-Kurven ergibt eine strenge umgekehrte Proportionalität, d. h. eine direkte Proportionalität zwischen Blut- und Atem-Alkohol. Diese Proportionalität gilt nicht für Blut-Alkohol-Werte unter 0,4—0,6‰, ein Grenzwert, der mit „augmentation limit" der „Alkohol-Clearence" der Lunge bezeichnet wird. Der Verteilungskoeffizient des Alkohols in Blut und Atemluft wird zu 1:2738 ermittelt. Daraus läßt sich unter Zugrundelegung eines Minutenvolumens von 10 l eine Alkohol-Clearence der Lunge von 3,65 errechnen.

Literatur.

[1] Binz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **6**, 287 (1877). — [2] Bodländer: Pflügers Arch. **32**, 398 (1883). — [3] Bogen: J. Amer. med. Assoc. **89**, 1508 (1927). — [4] Bogen: Amer. J. med. Sci. **176**, 153—167 (1928). — [5] Carpenter u. Thorne: J. of Pharmacol. **37**, 217—259 (1929). — [6] Carpenter, Thorne u. Lee: Arb.-physiol. **10**, 158 (1938). — [7] Cushny: J. of Physiol. **40**, 17 (1910). — [8] Haggard u. Greenberg: J. of Pharmacol. **52**, 137ff. — [9] Haggard u. Greenberg: J. Amer. med. Assoc. **104**, 2160 (1935). — [10] Haggard, Greenberg, Miller u. Carrol: J. Labor. a. clin. Med. **26**, 1527—1541 (1941). — [11] Harger, Lamb u. Hulpieu: J. Amer. med. Assoc. **110**, 779—785. — [12] Heckstеden u. Fehler: Dtsch. gerichtl. Med. **36**, 311. — [13] Hellwig: Dtsch. Ärztebl. **39**, 71. Jg., 341 bis 343 (1941). — [14] Liljestrand u. Linde: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **60**, 273 (1930). — [15] Mueller, B.: Münch. med. Wschr. **3/4** (1950). — [16] Zit. n, Rein: Lehrb. d. Physiol. Göttingen 1947. — [17] Strassmann: Pflügers Arch. **49**: 315 (1891). — [18] Suominen u. Kuusisto: Ref. in: Ber. Physiol. **41**, 838. — [19] Widmark: Die theoret. Grundlage u. prakt. Verwendbarkeit d. gerichtl. med. Alkohol-Bestimmung. Berlin—Wien 1932.

Dr. med., Dr. rer. nat. P. Seifert und cand. med. H. Günther.
Inst. für gerichtl. Med. der Universität Heidelberg.

Ausführlichere Angaben sind bei den Verfassern zu erfragen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 44—50 (1951).

Aus der Medizinischen Univ.-Klinik Kiel.

Die Reduktion des Hämiglobins.

VII. Mitteilung *.

Die Reduktion von Hämiglobin und Sauerstoff durch reversibel reduzierbare Farbstoffe in roten Zellen.

Von

MANFRED KIESE und HANS-DIERCK WALLER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. November 1950.)

Die katalytische Wirkung reversibel reduzierbarer Farbstoffe auf die enzymatische Reduktion des Hämiglobins in roten Zellen besteht darin, daß die Farbstoffe vom Hämiglobinreduktasesystem enzymatisch reduziert und die reduzierten Farbstoffe wiederum vom Hämiglobin oxydiert werden. Andererseits werden die reduzierten Farbstoffe aber auch durch Sauerstoff oxydiert, und die starke Steigerung der Sauerstoffaufnahme roter Zellen durch Zusatz eines Farbstoffes[1, 2] beruht auf dieser Reaktion. Die Farbstoffe beschleunigen die Reduktion des Hämiglobins auch in Gegenwart von Sauerstoff sowohl in vivo[3, 4], wie in vitro[5], doch ist die Wirkung bei Gegenwart von Sauerstoff geringer als in dessen Abwesenheit[5]. Schließlich können die Farbstoffe Hämoglobin zu Hämiglobin oxydieren[2, 6, 7, 8].

Wie es beim Zusammenwirken dieser Reaktionen zur Beschleunigung der Reduktion des Hämiglobins durch Farbstoffe kommt, ist nicht immer ganz verstanden worden[9]. Die Grundlage für die Analyse dieser Wirkung bildet die Kinetik der einzelnen Reaktionen. Für diese liegt bereits eine Reihe von Messungen vor. Aus ihnen ist erkennbar, daß die Oxydation des Hämoglobins zu Hämiglobin durch die zur Beschleunigung der Hämiglobinreduktion in vivo brauchbaren Farbstoffe eine untergeordnete Rolle spielt bei den Konzentrationen an Farbstoff, die in vivo zur Wirkung kommen[5].

Entscheidend für die Stärke der Wirkung der Farbstoffe auf die Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins ist dann bei einer gegebenen Geschwindigkeit der Reduktion der Farbstoffe durch das Hämiglobinreduktasesystem das Verhältnis der Geschwindigkeit der Oxydation der Leukofarbstoffe durch Hämiglobin einerseits und Sauerstoff andererseits. Aus den vorliegenden Messungen der Wirkung der Farbstoffe auf die Sauerstoffaufnahme[1, 2] und die Reduktion des Hämi-

* VI. Mitteilung: Arch exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 99 (1949).

globins[5, 10] in roten Zellen darf man vermuten, daß die beiden Reaktionsgeschwindigkeiten von gleicher Größenordnung sind.

Es fehlen jedoch Messungen beider Größen an Zellen der gleichen Tierart unter vergleichbaren Bedingungen, aus denen das Verhältnis der Geschwindigkeiten genauer ermittelt und damit die Farbstoffwirkung auch besser verstanden werden kann. Wir haben solche Messungen durchgeführt und gefunden, daß in roten Zellen vom Hunde die Oxydation der Leukofarbstoffe durch Sauerstoff beim Sauerstoffdruck der Luft und durch Hämiglobin bei vollständiger Oxydation des Hämoglobins zu Hämiglobin fast gleich schnell verläuft. Das Verhältnis der beiden Reaktionsgeschwindigkeiten ist von der Farbstoffkonzentration abhängig. Konzentrationen unter 10^{-5} Mol $\times$ l^{-1} reduzierten Hämiglobin etwas schneller als Sauerstoff, während höhere Konzentrationen Sauerstoff schneller reduzierten als Hämiglobin. Wirken Sauerstoff und Hämiglobin gleichzeitig ein, so werden beide vom Farbstoff reduziert und zwar im Verhältnis der Reduktionsgeschwindigkeit, die bei Einwirkung nur eines der beiden gemessen wurden.

Unter einem Sauerstoffdruck von 150 Torr und hohen Hämiglobinkonzentrationen wirkt das Toluidinblau auf die Hämiglobinreduktion mit einem Wirkungsgrad von etwa 0,5. In vivo dürfte der Wirkungsgrad der an der Wirkung beteiligten Molekeln bei hohen Hämiglobinkonzentrationen noch höher sein, da der mittlere Sauerstoffdruck im Blut erheblich geringer als 150 Torr und daher die Geschwindigkeit der Reaktion des hydrierten Farbstoffs mit Sauerstoff langsamer ist.

Versuche.

A. Methoden.

Die Untersuchungen wurden an roten Zellen vom Hund durchgeführt. Die Zellen wurden auf der Zentrifuge mit Phosphat-Ringer-Lösung gewaschen und dann in Phosphat-Ringer-Lösung vom p_H 7,4 suspendiert. Die Suspensionen wurden auf einen Blutfarbstoffgehalt von etwa 17 g/100 ml eingestellt. Glukose wurde in einer Konzentration von 0,2 g/100 ml zugesetzt.

Hämiglobin wurde in den Zellen durch Nitrit gebildet und der Überschuß weggewaschen.

Die Sauerstoffaufnahme der Zellen wurde manometrisch in Warburg-Gefäßen gemessen. Die Reduktion des Hämiglobins in Abwesenheit von Sauerstoff wurde ebenfalls manometrisch in einer Kohlenoxydatmosphäre bestimmt.

Zur gleichzeitigen Messung der Sauerstoff- und Hämiglobinreduktion wurde einerseits die Sauerstoffaufnahme der hämiglobinhaltigen Zellen manometrisch bestimmt und andererseits in einem zweiten gleichartigen Ansatz die Abnahme der Hämiglobinkonzentration durch Probenentnahmen optisch gemessen. Die Reduktion von Sauerstoff wurde dann als Differenz zwischen der Sauerstoffaufnahme und dem an das reduzierte Hämiglobin gebundenem Sauerstoff errechnet.

Die optische Messung der Hämiglobinkonzentration erfolgte nach der Zyanidmethode[11, 12] im Photometer von Havemann[13].

B. Ergebnisse.

1. Reduktion des Sauerstoffs.

Die Steigerung der Sauerstoffaufnahme roter Zellen durch Toluidinblau ist sehr gleichmäßig über längere Zeit. Bei der manometrischen Messung der Wirkung höherer Konzentrationen ist zunächst die Hämiglobinbildung an der Sauerstoffabgabe der roten Zellen leicht zu erkennen. In Suspensionen mit einer Toluidinblaukonzentration über 10^{-4} Mol im Liter kann die Geschwindigkeit der Hämiglobinbildung die der Sauerstoffaufnahme anfangs übertreffen, so daß es zu einem Druckanstieg im Reaktionsgefäß kommt. Die Zunahme der Hämiglobinkonzentration ist je nach der Toluidinblaukonzentration in 15—30 min beendet.

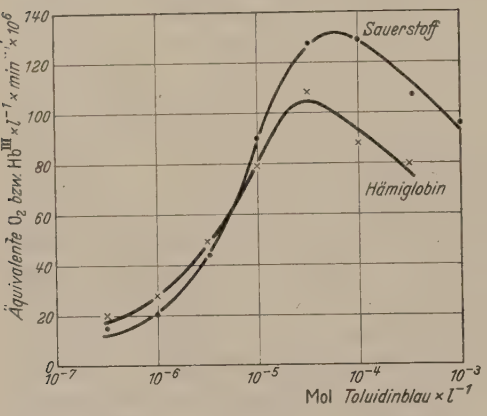


Abb. 1. Wirkung von Toluidinblau auf die Reduktion von Sauerstoff und Hämiglobin in roten Zellen in Abhängigkeit von der Toluidinblaukonzentration. Hundezellen in Phosphat-Ringer-Lösung vom pH 7,4, Temperatur 37° C. Blutfarbstoffkonzentration 17 g/100 ml Suspension ... Zellen unter Luft (150 Torr O_2). $\times\times\times$ Zellen mit Hämiglobin unter Kohlenoxyd.

Sobald die Zunahme der Hämiglobinkonzentration zum Stillstand gekommen ist, wird die Druckabnahme im Reaktionsgefäß stetig, und aus ihrer Größe wurde die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme errechnet.

In Übereinstimmung mit früheren Messungen an Kaninchenzellen[5] fanden wir, daß die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme der Toluidinblaukonzentration nicht proportional ist (Abb. 1). Bei Toluidinblaukonzentrationen in der Nähe von 10^{-4} Mol im Liter erreicht die Wirkung ein Maximum, höhere Konzentrationen sind weniger wirksam.

Die Geschwindigkeit der Sauerstoffübertragung durch Toluidinblau war abhängig vom Sauerstoffdruck. Eine Erhöhung des Sauerstoffdrucks von 150 auf 720 Torr beschleunigte die Reaktion nur wenig. So betrug die Sauerstoffaufnahme der Zellen mit einer Toluidinblaukonzentration von 10^{-5} Mol im Liter 100 Äquivalent $O_2 \times l^{-1} \times$ Min. $^{-1} \times 10^{-6}$ unter 720 Torr O_2 gegenüber 90 unter 150 Torr O_2. Für andere Farbstoffkonzentrationen war der Unterschied ähnlich. Unter einem Sauerstoffdruck von 21 Torr war die Wirkung des Toluidinblau schwächer. In der Tab. 1 sind die Mittel mehrerer Messungen zusammengestellt, sie sind mit den Daten der Abb. 1 zu vergleichen. Danach war eine Toluidinblaukonzentration von 10^{-6} Mol im Liter bei einem Sauerstoff-

druck von 21 Torr kaum wirksam. Mit steigender Konzentration nahm die Wirkung zu, erreichte aber bei einer Konzentration von 10^{-3} Mol im Liter noch nicht die gleiche Wirkungsstärke wie unter 150 Torr Sauerstoff.

Messungen der Sauerstoffübertragung in roten Zellen durch Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol[14] hatten ergeben, daß diese Verbindungen die Sauerstoffaufnahme stärker steigern als Toluidinblau. Aus Abb. 2 ist zu ersehen, daß das für alle Konzentrationen gilt und daß außerdem die Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der Konzentration bei den beiden Stoffen verschieden ist.

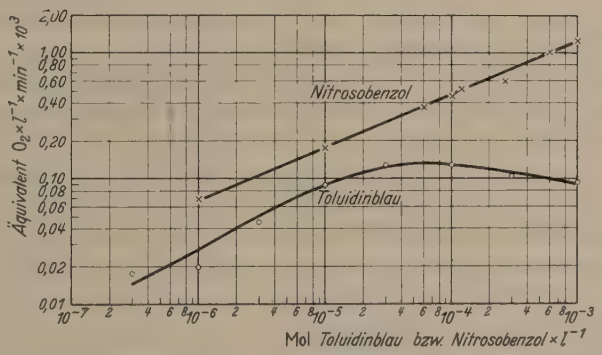


Abb. 2. Steigerung der Sauerstoffaufnahme roter Zellen durch Toluidinblau und Nitrosobenzol (oder Phenylhydroxylamin). Hundezellen in Phosphat-RINGER-Lösung unter Luft (150 Torr O_2) bei 37° C. ○○○ Toluidinblau; × × × Nitrosobenzol (oder Phenylhydroxylamin) (Daten von KIESE und WALLER)[14]; Abszisse und Ordinate logarithmisch geteilt.

2. Reduktion des Hämiglobins.

Die Wirkung des Toluidinblaus auf die Reduktion des Hämiglobins in Abwesenheit von Sauerstoff ist ebenfalls in Abb. 1 dargestellt. Sie weist eine ähnliche Abhängigkeit von der Toluidinblaukonzentration auf, wie die Wirkung auf die Reduktion des Sauerstoffs. Niedrige Konzentrationen des Toluidinblaus (10^{-6} Mol im Liter) reduzierten Hämi-

Tabelle 1. *Sauerstoffübertragung durch Toluidinblau in roten Zellen des Hundes bei einem Sauerstoffdruck von 21 Torr. Zellen in Phosphat-*RINGER*-Lösung, p_H 7,4, Temp. 37° C. Blutfarbstoff 17 g/100 ml.*

Toluidinblaukonz. Mol × l^{-1}	Sauerstoffaufnahme Äquivalent × l^{-1} × Min^{-1} × 10^6
10^{-6}	5
3×10^{-6}	10
10^{-5}	34
10^{-4}	48
10^{-3}	64

globin schneller als Sauerstoff. In den Suspensionen mit etwa 17 g Blutfarbstoff/100 ml wurden 28×10^{-6} Äquivalent Hämiglobin $\times l^{-1} \times Min^{-1}$ reduziert, aber nur 20×10^{-6} Äquivalent Sauerstoff $\times l^{-1} \times Min^{-1}$. Toluidinblaukonzentrationen über 10^{-5} Mol im Liter reduzierten Sauerstoff etwas schneller als Hämiglobin.

3. Gleichzeitige Reduktion von Hämiglobin und Sauerstoff.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen[5] fanden wir, daß die Reduktion des Hämiglobins in roten Zellen durch Toluidinblau in Anwesenheit von Sauerstoff weniger beschleunigt wird, als bei Ausschluß von Sauerstoff. Die neuen Messungen ergaben, daß andererseits auch die Wirkung des Toluidinblaus auf die Reduktion von Sauerstoff durch Hämiglobin vermindert wird.

In roten Zellen vom Hunde, deren Blutfarbstoff fast vollständig zu Hämiglobin oxydiert war, wurde die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme und der Reduktion von Hämiglobin nach Zusatz von Toluidinblau in einer Konzentration von 10^{-5} Mol $\times l^{-1}$ gemessen. Als Mittel von 5 Versuchen ergab sich eine Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins von 41×10^{-6} Äquivalent $\times l^{-1} \times Min^{-1}$ und des Sauerstoffs (Sauerstoffaufnahme minus an reduziertes Hämiglobin gebundenem Sauerstoff) von 35×10^{-6} Äquivalent $\times l^{-1} \times Min^{-1}$. Die Summe der reduzierten Äquivalente Hämiglobin + Sauerstoff, nämlich 75×10^{-6} Äquivalent $\times l^{-1} \times Min^{-1}$ entsprach der Geschwindigkeit der Reduktion von Hämiglobin allein in Abwesenheit von Sauerstoff.

4. Hämiglobinbildung durch Toluidinblau.

In Lösungen von Hämoglobin, Sauerstoff und Toluidinblau wird in Abwesenheit reduzierender Systeme ein Teil des Hämoglobins durch den Farbstoff oxydiert. Nach der Geschwindigkeit der Reaktion[5] war anzunehmen, daß sie gegenüber der Sauerstoffübertragung und der Beschleunigung der Hämiglobinreduktion eine untergeordnete Rolle spielt. Dann mußte das Gleichgewicht zwischen der Hämiglobinbildung durch den Farbstoff und der von ihm beschleunigten Reduktion des Hämiglobins bei niedrigen Hämiglobinkonzentrationen liegen.

Zur Bestimmung dieses Gleichgewichts wurde Suspensionen roter Zellen in Phosphat-Ringer-Lösung mit Glukose Toluidinblau in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt und 30 sowie 60 min danach die Hämiglobinkonzentration optisch gemessen.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der manometrischen Messungen war das Gleichgewicht nach 30 min erreicht. Die gemessenen Hämiglobinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Toluidinblaukonzentration sind in Abb. 3 gegeben. In den Suspensionen, die etwa 17 g Blutfarbstoff je 100 ml enthielten und mit Luft im Gleichgewicht

gehalten wurden, betrug die Hämiglobinkonzentration 1 g/100 ml bei einer Toluidinblaukonzentration von 10^{-4} Mol $\times$ l^{-1}. Diese Konzentration liegt über den in vivo angewandten und auch über der in der Beschleunigung der Hämiglobinreduktion maximal wirksamen (s. Abb. 1). Mit der Erhöhung der Toluidinblaukonzentration auf 10^{-3} Mol $\times$ l^{-1} erreicht die Hämiglobinkonzentration 4 g/100 ml.

Unter einem Sauerstoffdruck von 28 Torr lagen die Gleichgewichtskonzentrationen des Hämiglobins höher als unter 150 Torr. Da unter 28 Torr Sauerstoff der Anteil des freien Hämoglobins wesentlich größer ist als unter 150 Torr, ist auch die Geschwindigkeit der Hämiglobinbildung größer. Die Beschleunigung der Hämiglobinreduktion durch den Farbstoff wird aber durch Verminderung des Sauerstoffdrucks von 150 auf 28 Torr nur wenig vermehrt.

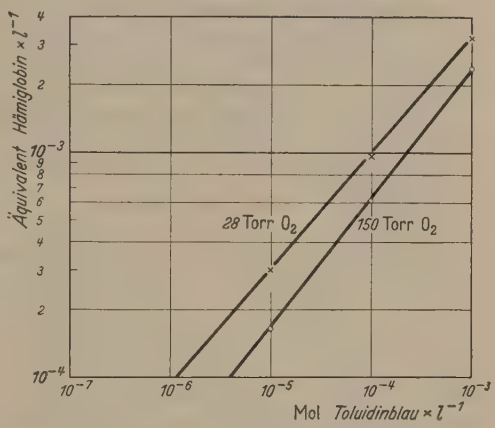


Abb. 3. Maximal durch Toluidinblauwirkung erreichte Hämiglobinkonzentration in roten Zellen in Abhängigkeit von der Toluidinblaukonzentration und dem Sauerstoffdruck. Hundezellen in Phosphat-RINGER-Lösung. Glukosekonzentration 0,2%, p_H 7,4, Temperatur 37° C. Mittel aus je 3 Messungen. $\times\times\times$ 28 Torr O_2; 000 150 Torr O_2.

Zusammenfassung.

Die Wirkung des Toluidinblaus auf die Reduktion von Hämiglobin und die Reduktion von Sauerstoff in roten Zellen des Hundes wurde gemessen.

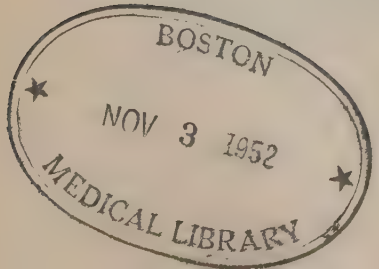
Die Reduktion von Hämiglobin nach vollständiger Oxydation des Blutfarbstoffs und die Reduktion von Sauerstoff unter einem Druck von 150 Torr verlaufen bei einer Toluidinblaukonzentration von 10^{-5} Mol $\times$ l^{-1} gleich schnell. Sind Hämiglobin und Sauerstoff gleichzeitig in der Zelle vorhanden, so wird jedes von beiden nur mit etwa der halben Geschwindigkeit reduziert.

Die aus der Hämiglobinbildung durch Toluidinblau und dessen beschleunigender Wirkung auf die Hämiglobinreduktion resultierende Hämiglobinkonzentration in den roten Zellen ist gering und beträgt bei einer Toluidinblaukonzentration von 10^{-5} Mol $\times$ l^{-1} in Zellsuspensionen mit 17 g Blutfarbstoff/100 ml unter Luft nur 0,3 g Hämiglobin/100 ml.

Literatur.

[1] Harrop, G. A., u. E. S. G. Barron: J. of exper. Med. **48**, 207 (1928). — J. of biol. Chem. **79**, 65 (1928). — [2] Warburg, O., F. Kubowitz u. W. Christian: Biochem. Z. **221**, 494 (1930); **227**, 245 (1930). — [3] Williams, J. R., u. F. E. Challis: J. Labor. a. clin. Med. **19**, 166 (1933). — [4] Steele, C. W., u. W. W. Spink: New England J. Med. **208**, 1152 (1933). — [5] Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 288 (1947). — [6] Warburg, O., u. A. Reid: Biochem. Z. **242**, 149 (1931). — [7] Wendel, W. B.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **27**, 624 (1930). — [8] Michaelis, L., u. K. Salomon: Biochem. Z. **234**, 107 (1931). — [9] Editorial: J. Amer. Med. Assoc. **141**, 534 (1949). — [10] Kiese, M.: Biochem. Z. **316**, 264 (1944). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 267 (1947). — [11] Evelyn, K. E., and H. T. Malloy: J. of biol. Chem. **126**, 655 (1938). — [12] Havemann, R., F. Jung u. B. v. Issekutz jun.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [13] Havemann, R.: Biochem. Z. **301**, 105 (1939). — [14] Kiese, M., u. H.-D. Waller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 345 (1950).

Professor Dr. M. Kiese, Marburg/Lahn, Pharmakol. Institut, Pilgrimstein 2.



Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 51—58 (1951).

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. E. Lehnartz) und dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med., Dr. phil. A. Loeser) der Universität Münster i. W.

Über einen quantitativen Nachweis von 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil.

Von

Wilhelm Doden und Rudolf Kopf.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. November 1950.)

I. Einleitung.

Seit der Einführung des 2-Thiouracil und seiner Derivate (besonders 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil) in die Therapie der Hyperthyreosen kommt diesen Stoffen erhebliche klinische Bedeutung zu. Es wird daher häufig von wissenschaftlichem Interesse und von praktischer Bedeutung sein, ihre Konzentration im Blut und Harn von Kranken quantitativ zu bestimmen, um so Anhaltspunkte für ihre Verteilung und Ausscheidung zu gewinnen.

Die hier beschriebene Bestimmungsmethode für das 2-Thiouracil und seine Derivate geht auf eine von Grote[1] angegebene Farbreaktion der C=S-Gruppe im Thioharnstoffmolekül zurück: Natriumnitrosoferrocyanid wird in alkalischer Lösung durch salzsaures Hydroxylamin zu Natriumaquoferrocyanid umgesetzt. Wird die Lösung nunmehr mit Brom versetzt, so entsteht Natriumaquoferricyanid, das sich beim Stehen im alkalischen Milieu in eine noch nicht aufgeklärte Verbindung umwandelt, der mit Thioharnstoff eine zunächst bläue, dann purpur- bis karmoisinfarbene Reaktion gibt. Zeitliche Entwicklung und Nuance des Farbtones sind dabei abhängig von der Temperatur und vom p_H-Wert.

Späteren Untersuchern, die diese Reaktion für die quantitative Bestimmung von Thioharnstoff bzw. 2-Thiouracil und seine Derivate anzuwenden versuchten, gelang es nur mit Mühe, reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen (Chesley[2], Olson, Ely und Reineke[3], Williams und Kay[4] u. a.). Zur Herstellung einer stets gleich wirksamen Reaktionslösung sind daher von diesen Autoren verschiedene Modifikationen der ursprünglichen Methode angegeben worden.

So schreibt Chesley[2] genaue Zeiten für die Zugabe der einzelnen Bestandteile bei der Herstellung der Reaktionslösung vor und macht das überschüssige Brom, das die Reaktion stören würde, durch Phenolzusatz unwirksam. Das Reagens entwickelt eine bläulich-grüne Farbe und ist nach seinen Angaben nur wenige Stunden haltbar. Olson und Mitarbeiter[3] konnten durch einen „Alterungsprozeß" erreichen, daß die Reaktionslösung bis zu 75 Tagen haltbar blieb und reproduzierbare Werte lieferte.

Mit dem „Evelyn Macro Colorimeter" konnte Chesley[2] Konzentrationen von 0,4—4,0 mg% Thioharnstoff nachweisen. Olson und Mitarbeiter[3] bedienten sich des „Coleman Universal Spektrophotometer" und fanden für Konzentrationen von 0,5—3,0 mg% 2-Thiouracil das Lambert-Beersche Gesetz gültig.

In der vorliegenden Arbeit haben wir die Versuche der oben genannten Autoren geprüft und die Methode für die quantitative Bestimmung von 2-Thiouracil und seinen Derivaten — 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil — durch einige Abwandlungen vereinfacht. Die Extinktion wurde dabei mit dem Pulfrich-Stufenphotometer gemessen, eine Reihe von Vergleichsbestimmungen mit dem Photometer von Leitz oder dem mit einem Multiflex-Galvanometer verbundenen Becherglaskolorimeter (Dr. Lange) durchgeführt.

Für die Messungen mit dem Becherglaskolorimeter und dem Stufenphotometer wurden die gleichen planparallelen Küvetten von 20 mm Schichtdicke benutzt.

Das Stammreagens wurde im wesentlichen nach der Vorschrift von Chesley[2] bereitet, das Gebrauchsreagens nach Olson und Mitarbeitern[3] durch Verdünnung mit Phosphatpuffer hergestellt. Im Gegensatz zu dem Verfahren von Chesley[2], dessen Reagens nur einige Stunden brauchbar war, ließen Olson und Mitarbeiter[3] ihre frisch bereitete Stammlösung 5—12 Std bei Zimmertemperatur stehen und erhielten durch diese „Alterung" ein etwa 75 Tage haltbares Reagens. Bei gleichem Vorgehen fanden wir, daß die Stammlösung in den ersten 3 Wochen in geringem Maße an Wirksamkeit verliert. Dies läßt sich nach unseren Untersuchungen durch einen 24-stündigen Alterungsprozeß vermeiden. Ein so gealtertes Reagens ist länger als 100 Tage gleich wirksam.

Während sich nach Chesley[2] die maximale Farbtiefe gewöhnlich nach 50 bis 70 min, gelegentlich jedoch erst nach 3 Std entwickelt, wird nach Olson und Mitarbeitern[3] durch Erwärmen der Ansätze auf 50° C diese Zeitspanne auf 15 min verkürzt.

Eine weitere Vereinfachung der Methode erreichten wir durch eine „optimale Erwärmungsdauer" von 5 min bei 50° C. Wird zu diesem Zeitpunkt die Erwärmung unterbrochen, so bleibt bei Zimmertemperatur der Farbwert 20 min konstant, so daß bequem abgelesen werden kann. Hierin liegt ein methodischer Vorteil, besonders bei Reihenuntersuchungen.

II. Methodik.

a) Erforderliche Reagentien.

A. Zur Fällung der Plasmaeiweißkörper:

1. 10%ige Natriumwolframat-Lösung,
2. $^2/_3$ n-Schwefelsäure,
   jeweils vor Gebrauch gleiche Teile beider Lösungen mischen.

B. Zur Herstellung der Reaktionslösung (Stammreagens):

1. 5%ige Natriumnitrosoferrocyanid-Lösung,
2. 10%ige Hydroxylaminchlorhydrat-Lösung,
3. 10%ige Natriumbikarbonat-Lösung,
4. Brom p. a.,
5. 2%ige Phenol-Lösung.

C. Phosphatpuffer zur Herstellung der Gebrauchslösung (Gebrauchsreagens):
1. 0,2 mol-Dinatriumphosphat-Lösung,
2. 0,2 mol-Monokaliumphosphat-Lösung,
jeweils vor Gebrauch gleiche Teile beider Lösungen mischen.

D. Zur Herstellung der Standardlösungen:
1. 100 mg%ige 2-Thiouracil-Lösung,
2. 100 mg%ige 4-Methyl-2-thiouracil-Lösung,
3. 100 mg%ige 4-Propyl-2-thiouracil-Lösung,
4. 25%ige Ammoniak-Lösung p. a.

b) Herstellung der Reaktions- und Gebrauchslösung.

In einen 50 cm³ fassenden ERLENMEYER-Kolben werden 10,0 cm³ einer 5%igen Natriumnitrosoferrocyanid-Lösung pipettiert, 5,0 cm³ einer 10%igen Lösung von Hydroxylaminchlorhydrat zugegeben und der Kolben mit *einem* kurzen Ruck aus dem Handgelenk geschüttelt. Nach *genau* 2 min werden 10,0 cm³ einer 10%igen Natriumbikarbonat-Lösung zugesetzt und wieder *einmal* kurz geschüttelt, wobei eine geringe Menge Gas entweicht. Man läßt genau 10 min stehen und gibt dann 0,11 cm³ Brom zu. Dabei nimmt die Lösung unter lebhafter Gasentwicklung eine mahagonibraune Farbe an. Man schüttelt noch *einmal* kurz, läßt 10 min stehen und fügt danach 5,0 cm³ einer 2%igen Phenol-Lösung hinzu. Das so bereitete Stammreagens bleibt 24 Std bei Zimmertemperatur stehen („Alterung"). Hierbei gewinnt es zunächst eine braun-grüne und schließlich eine grüne Farbe. Ein so „gealtertes" Reagens zeigt 3 Monate hindurch gleichbleibende Wirksamkeit. Wurde die Zeit der „Alterung" abgekürzt, z. B. auf 5—12 Std, so verlor das Reagens in den ersten Wochen kontinuierlich einen geringen Betrag seiner Wirksamkeit, um dann erst etwa 50 Tage lang konstante Werte zu liefern. Nach abgeschlossener Alterung wird das Stammreagens im Eisschrank bei etwa + 5° C aufbewahrt. Im Laufe der Zeit entsteht ein feiner, dunkler Niederschlag, der vor Bereitung der Gebrauchslösung abfiltriert werden muß. Eine Änderung der Wirksamkeit tritt dadurch nicht ein.

Für den Bromzusatz, der möglichst genau sein muß, bedienten wir uns einer Blutzuckerpipette (Vorsicht!). Es ist möglich, in einem größeren Gefäß die mehrfache Menge Stammreagens herzustellen, indem man das Verhältnis der einzelnen Komponenten genau wahrt und im übrigen nach der Vorschrift verfährt.

Alle genannten Bedingungen müssen peinlich genau eingehalten werden. Trotzdem können sich die Lösungen in ihrem Wirkungsgrad etwas unterscheiden, so daß die Eichung mit Standardlösungen bekannter Konzentration und eventuell die Berechnung eines besonderen Faktors für jedes Reagens erforderlich ist.

Zum *Gebrauch* wird das Stammreagens im Verhältnis 1:20 mit Phosphatpuffer verdünnt (Gebrauchsreagens). Der Puffer besteht aus gleichen Teilen 0,2 mol-Dinatriumphosphat- und 0,2 mol-Monokaliumphosphat-Lösung, die jeweils vor Gebrauch gemischt werden. Da die Farbentwicklung von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt, muß der p_H-Wert zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse konstant sein. Die Kapazität dieses Puffers gewährleistet einen optimalen p_H-Wert von 6,8.

c) Eichung mit Standardlösungen.

Um die Gültigkeit des LAMBERT-BEERschen Gesetzes für die Farbreaktion zu prüfen und den für die Ablesung mit dem Stufenphotometer günstigsten Konzentrationsbereich, das wirksamste Filter und die

geeignete Schichtdicke zu ermitteln, wurden, ausgehend von 100 mg%igen Stammlösungen, Standardlösungen von 0,5—6,0 mg% 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil oder 4-Propyl-2-thiouracil hergestellt. 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil lösten sich bei dieser Konzentration erst nach Zugabe von je 1,0 cm³ einer 25%igen Ammoniaklösung auf 1000,0 cm³.

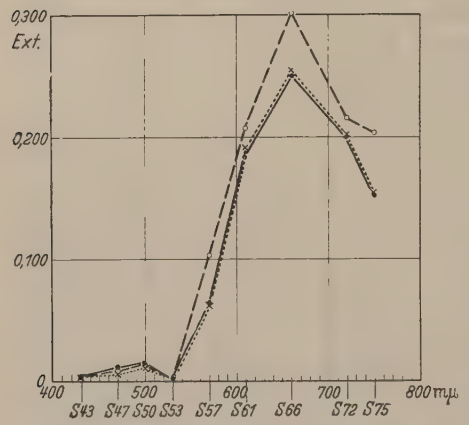


Abb. 1. Absorptionsspektrum von 2,0 mg%igen Standardlösungen von 2-Thiouracil (— — —), 4-Methyl-2-thiouracil(- - - - -) und 4-Propyl-2-thiouracil (———) mit Grotes Reagens. 20 mm Schichtdicke, Stufenphotometer. Ordinate: Extinktion. Abszisse: Wellenlänge in mμ mit eingetragenen wirksamen Filterschwerpunkten.

Der optimale Ablesebereich lag mit 20 mm Schichtdicke und Filter S 66 für 2-Thiouracil bei Konzentrationen von 1,0—4,5 mg%, für 4-Methyl-2-thiouracil bei 1,0—5,0 mg% und für 4-Propyl-2-thiouracil bei 1,0—5,5 mg%. In diesem Bereich gilt das Lambert-Beersche Gesetz (s. Abb. 2). Das Maximum der Absorption liegt im roten Spektralbereich bei 660 mμ, dem wirksamen Schwerpunkt des Filters S 66. Abb. 1 zeigt die Absorptionsspektren von 2,0 mg%igen Lösungen von 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und

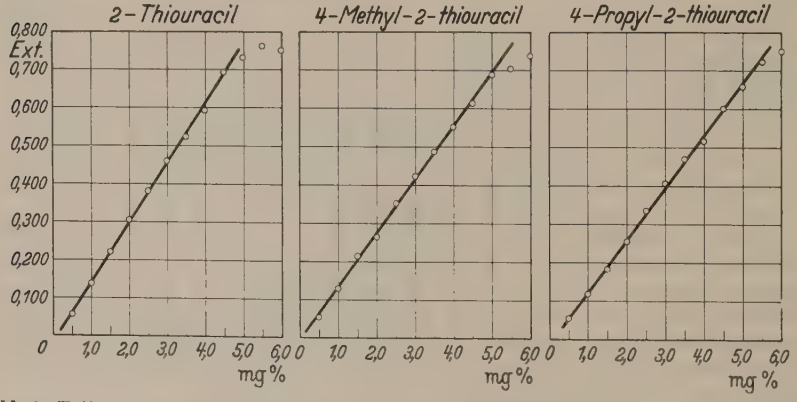


Abb. 2. Extinktionen von 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil bei Konzentrationen von 0,5 bis 6,0 mg%. Filter S 66, Schichtdicke 20 mm. Ordinate: Extinktion, Abszisse: Konzentrationen in mg%.

4-Propyl-2-thiouracil mit dem modifizierten Groteschen Reagens bei Verwendung von Küvetten mit 20 mm Schichtdicke.

Die Streuung von 10 Einzelmessungen an einer 2,0 mg%igen 2-Thiouracil-Lösung betrug nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}} \pm 0{,}00675$, d. h. $\pm$ 2,3% des Mittelwertes. Die Größe dieses Fehlers entspricht dem photometrischen Ablesefehler bei Messungen im langwelligen Spektralbereich (HEILMEYER[5], KORTÜM[6]). Diese Meßgenauigkeit gilt für Messungen an Standardlösungen.

Für alle hier angegebenen Konzentrationsbestimmungen wurde ein Reagens benutzt, dessen Absorptionsverhältnis A für 2-Thiouracil den Wert von 13,50, für 4-Methyl-2-thiouracil von 14,53 und für 4-Propyl-2-thiouracil den Wert von 15,42 hatte. Da die Messungen mit 2,0 cm³ Schichtdicke durchgeführt wurden, muß dieser Wert durch 2 dividiert werden und ergibt dann, mit der jeweiligen Extinktion multipliziert, die Konzentration der unbekannten Lösung in mg%. Das Absorptionsverhältnis A wurde nach der Formel $A = \frac{c_1}{\varepsilon_1}$ berechnet, in der c_1 eine bekannte Konzentration, ε_1 der dazu gehörige Extinktionskoeffizient ist.

d) Ausführung.

Zur Herstellung der Gebrauchslösung werden in ein HAGEDORN-JENSEN-Glas 19,0 cm³ Phosphatpuffer und 1,0 cm³ Stammreagens pipettiert, in ein anderes HAGEDORN-JENSEN-Glas 4,0 cm³ Wasser (Leerversuch) und in ein drittes Glas 4,0 cm³ der zu untersuchenden Flüssigkeit (Standardlösung bzw. Harn oder enteiweißtes Serum). Alle 3 Gläser werden in ein auf *genau* 50° C eingestelltes Wasserbad gebracht, bis ihr Inhalt die Temperatur des Bades angenommen hat (6 min). Anschließend werden je 4,0 cm³ Gebrauchsreagens zu Leerversuch und zu Versuchsansatz gegeben, die Ansätze weitere 5 min im Wasserbad belassen und dann in Küvetten von 20 mm Schichtdicke entleert; Ablesung bei Zimmertemperatur.

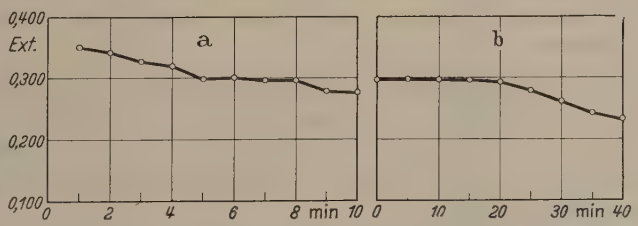


Abb. 3. a) Abhängigkeit der Extinktion von der Verweildauer der Ansätze im Wasserbad bei 50° C b) Verhalten der Farbintensität bei Zimmertemperatur (20,5° C) nach vorheriger Erwärmung der Ansätze im Wasserbad von 50° C. Verweildauer 5 min. Filter S 66, 20 mm Schichtdicke. 2,0 mg% 2-Thiouracil. Ordinate: Extinktion, Abszisse: Zeit in Minuten.

Die Zeitspanne von 5 min („optimale Erwärmungsdauer") wurde von uns gewählt, weil die Farbintensität, die bei 50° C bereits nach 1 min maximal ist, 5 min lang kontinuierlich abnimmt und dann einige Minuten konstant bleibt (vgl. Abb. 3a). Bei Zimmertemperatur bleibt diese Farbintensität 20 min gleich (vgl. Abb. 3b).

e) Untersuchung des Blutes.

In ein Zentrifugenglas gibt man zu 4,0 cm³ Serum 2,0 cm³ einer 10%igen Natriumwolframat-Lösung, fügt tropfenweise unter vorsichtigem Schütteln 2,0 cm³ 2/3n-Schwefelsäure hinzu und rührt mit

Tabelle 1. *Bestimmung von 2-Thiouracil im Serum*.*
(20 mm Schichtdicke; Filter S 66.)

Nr.	2-Tiouracil-zusatz in mg%	Extinktion	2-Thiouracil gefunden in mg%	Abweichung in %
1	2,0	0,146	1,97	—1,5
2	2,0	0,146	1,97	—1,5
3	2,0	0,144	1,95	—2,5
4	2,0	0,145	1,96	—2,0
5	2,0	0,146	1,97	—1,5
6	4,0	0,295	3,98	—0,5
7	4,0	0,296	3,99	—0,25
8	4,0	0,294	3,97	—0,75
9	4,0	0,295	3,98	—0,5
10	4,0	0,296	3,99	—0,25
11	4,0	0,295	3,98	—0,5
12	4,0	0,296	3,99	—0,25
13	4,0	0,293	3,96	—1,0
14	4,0	0,296	3,99	—0,25
15	6,0	0,445	6,01	+0,1
16	6,0	0,445	6,01	+0,1
17	6,0	0,446	6,02	+0,3
18	6,0	0,445	6,01	+0,1
19	6,0	0,444	6,00	0,0
Mittelwert:	4,0		3,98	—0,5

* Das 2-Thiouracil wurde dem Serum von Menschen und Tieren (Pferd, Schwein) zugesetzt.

einem Glasstab gut um. Nach 10 min wird zentrifugiert, von der überstehenden klaren Flüssigkeit 4,0 cm³ in ein Hagedorn-Jensen-Glas pipettiert und wie oben angegeben weiterverarbeitet. Als Leerversuch dienen 4,0 cm³ Wasser. Das Serum erfährt durch die Enteiweißung eine Verdünnung im Verhältnis 1 : 1.

Um die Genauigkeit der Methode zu prüfen, wurden Seren untersucht, denen in verschiedener Konzentration 2-Thiouracil zugesetzt war. Dabei ergab sich, daß bei Bestimmungen von 2-Thiouracil im Serum mit einem mittleren Verlust von 0,5% (maximale Abweichungen: —2,5% und +0,3%) zu rechnen ist (vgl. Tab. 1). Gleiche Ergebnisse fanden wir bei der Bestimmung von 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil im Serum.

Olson und Mitarbeiter[3], die ebenfalls mit Wolframsäure enteiweißten, machen keine Zahlenangaben über dabei eintretende Verluste, sondern berichten nur über

„befriedigende Ergebnisse". Williams und Kay[4] konnten nach Enteiweißung mit Trichloressigsäure bei 3,8 mg% 2-Thiouracil im Serum nur 53% wiederfinden. Wegen des großen Verlustes empfehlen sie Enteiweißung mit Kadmiumchlorid. Diese Methode bedingt eine Verdünnung des Serums im Verhältnis 1:10 und macht eine p_H-Einstellung für jeden Versuchsansatz erforderlich.

f) Untersuchung des Harns.

Klarer, evtl. filtrierter Harn wird im Verhältnis 1 : 10 oder 1 : 20 mit destilliertem Wasser verdünnt, 4,0 cm³ dieser Verdünnung in ein Hagedorn-Jensen-Glas gegeben und dann wie oben weiterverarbeitet. Als Leerversuch dienen 4,0 cm³ Wasser.

Tabelle 2. *Bestimmung von 2-Thiouracil im Harn.*
(Harnverdünnung 1:10 und 1:20; 20 mm Schichtdicke; Filter S 66.)

Nr.	2-Thiouracil-zusatz in mg%	Extinktion	2-Thiouracil gefunden in mg%	Abweichung in %
	Harnverdünnung 1:10.			
1	1,0	0,143	0,97	— 3,0
2	1,0	0,131	0,89	—11,0
3	2,0	0,254	1,71	—14,5
4	2,0	0,257	1,73	—13,5
5	3,0	0,382	2,58	—14,0
6	3,0	0,380	2,57	—14,25
7	4,0	0,511	3,45	—13,75
8	4,0	0,497	3,35	—16,25
Mittelwert:	2,0		2,16	—13,6
	Harnverdünnung 1:20.			
9	1,0	0,152	1,03	+ 3,0
10	1,0	0,149	1,00	0,0
11	2,0	0,306	2,06	+ 3,0
12	2,0	0,297	2,00	0,0
13	3,0	0,429	2,89	— 3,7
14	3,0	0,437	2,95	— 1,7
15	4,0	0,541	3,65	— 8,75
16	4,0	0,557	3,76	— 6,0
Mittelwert:	2,5		2,42	— 3,2

Bei der Harnverdünnung 1:10 betrug der durchschnittliche prozentuale Fehler —13,6 %(— 16,25% und —3,0%), bei der Harnverdünnung 1:20 nur —3,20 % (maximale Abweichungen: + 3,0% und —8,75%) (vgl. Tab. 2). Der Unterschied wird vermutlich durch die verschiedene Eigenfarbe der beiden Harnverdünnungen bedingt.

g) Spezifität der Methode.

Mit Grotes Reagens geben außer Thiouracilen[9] Thioharnstoff (Grote[1]) und Sulfocyanat (Chesley[2]) eine ähnliche Reaktion, Sulfonamide dagegen nicht[2]. Nach Hollmann und De Jonge[7] soll Sulfa-

pyridin jedoch damit nachgewiesen werden können. Eigene Versuche zeigten, daß mit p-Azetylamino-benzaldehyd-thiosemicarbazon (TB I/698, „Conteben") ebenfalls eine Reaktion eintritt, die zum quantitativen Nachweis der Verbindung dienen kann. Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden[8].

Außer den in dieser Arbeit genannten Verbindungen haben wir eine größere Anzahl anderer Thiouracilderivate untersucht und gefunden, daß es 2-Thiouracile gibt, die mit Grotes Reagens keine Reaktion geben, andere hingegen die Absorptionsbande nach dem langwelligen Spektralbereich verschieben[9].

Zusammenfassung.

Der von Chesley sowie Olson und Mitarbeitern angegebene Nachweis von Thioharnstoff und 2-Thiouracil mit Grotes Reagens wurde vereinfacht und auf den Nachweis von substituierten 2-Thiouracilen (4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil) ausgedehnt. Die Messung der Extinktionen erfolgte mit dem Pulfrich-Stufenphotometer, dem Leitzschen Photometer (Leifo) oder dem Becherglaskolorimeter (Dr. Lange).

Für die quantitative Untersuchung von Blut und Harn werden Beispiele mit Zusatz von 2-Thiouracil angegeben.

Die Spezifität der Methode wird besprochen.

Literatur.

[1] Grote, J. W.: J. of biol. Chem. **93**, 25 (1931). — [2] Chesley, L. C.: J. of biol. Chem. **152**, 571 (1944). — [3] Olson, K. J., R. E. Ely and E. P. Reineke: J. of biol. Chem. **169**, 681 (1947). — [4] Williams, R. H., and G. A. Kay: Arch. int. Med. **80**, 37 (1947). — [5] Heilmeyer, L.: Medizinische Spektrophotometrie. Jena 1933. — [6] Kortüm, G.: Kolorimetrie und Spektralphotometrie. Berlin 1948. — [7] Hollmann, E. C. M. J., u. Th. D. De Jonge: Pharmazeut. Weekbl. **83**, 1 (1948). — Ref.: Schweiz. Apoth.-Ztg. **86**, 483 (1948). — Ref.: Süddtsch. Apoth.-Ztg. **1949**, 611. — [8] Doden, W., u. R. Kopf: Klin. Wschr. im Druck. — [9] Doden, W., R. Kopf u. H. Specker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. im Druck.

Dr. Rudolf Kopf, Münster i. W., Westring 12, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 59—68 (1951).

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. Gustav v. Bergmann).
Laboratorium für klinische Pharmakologie (Leiter: Prof. Dr. Fritz Zinnitz).

Über die pharmakologische Wirkung von 3-tert.-Butylamino-acrolein.

Von
Fritz Zinnitz und Karl Heuwing.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. September 1950.)

Das 3-tert.-Butylamino-acrolein ist ein mit Hilfe von tertiärem Butylamin gewonnenes Umsetzungsprodukt des Propargylaldehyds[1], dem folgende Strukturformel zukommt:

$$(CH_3)_3C-\overset{H}{N}-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-\overset{H}{C}=O \qquad (1)$$

Bei normaler Zimmertemperatur besteht die Substanz aus hellgelben, gut wasserlöslichen Kristallen vom Schmelzpunkt 85°. Sie besitzt eine interessante Weckwirkung.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden an weißen Mäusen im Gewicht von 18—25 g ausgeführt.

Methodik.

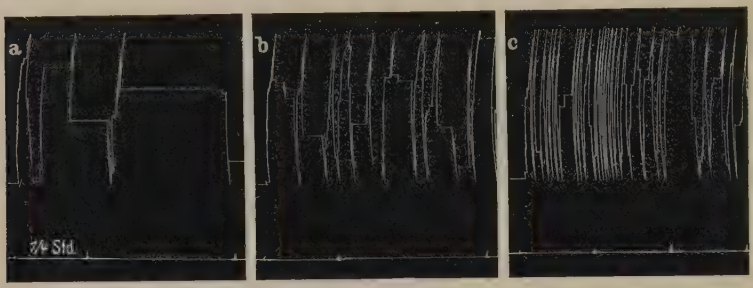
Mit Hilfe einer sinnvollen Methodik ist es möglich, die Lauftätigkeit frei beweglicher weißer Mäuse kurvenmäßig in der Zeiteinheit genau zu registrieren. Über den Umweg eines einfachen rechnerischen Verfahrens kommt man zu einem anschaulichen graphischen Bild von der Motilität jedes einzelnen Versuchstieres. Um den Einfluß zentral erregender oder beruhigender Substanzen auf die Laufähigkeit der Tiere zu erkennen, ist die Apparatur nach Forst[2] zweckmäßig.

Die Versuchsdauer wurde auf 2 Std. festgesetzt, die Zeitmarkierung jede volle Viertelstunde mit Hilfe eines elektromagnetischen Tippers vorgenommen. Da nun 1 mm Höhenunterschied je einen Stromschluß bedeutet, so ist die Anzahl der in jeder Viertelstunde erfolgten Stromschlüsse genau zu bestimmen. Die ermittelten Werte werden zweckmäßig in ihrer zeitlichen Aufeinanderfolge, jedoch auf ein Hundertstel reduziert, in die oberste Reihe A einer Tabelle eingetragen: Folgende Tabelle gibt die Werte des Versuches 9 wieder, von der Abb. 1a ein Ausschnitt der ersten 3 Viertelstunden ist.

Versuch 9. Gruppe I; Maus, 21 g Körpergewicht.

Viertelstunden	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
A	1,78	0,89	0,38	2,27	0,24	0,11	0,00	0,10
B	2,67	1,27	2,65	2,51	0,35	0,11	0,10	
C	1,33	0,63	1,32	1,25	0,17	0,05	0,05	

Der Wert jeder Viertelstunde wird mit dem der nächstfolgenden addiert und die so entstandene Summe in die Reihe B der Tabelle eingetragen. Werden hierauf die Werte der Reihe B halbiert, so kommen in die Reihe C Werte zu stehen,



2b. 1. Unterschiedliche Motilitätsgrade bei normalen Versuchstieren. a) Gruppe I der Mäuse, Körpergewicht des Versuchstieres 21 g, b) Gruppe II der Mäuse, Körpergewicht des Versuchstieres 4 g, c) Gruppe III der Mäuse, Körpergewicht des Versuchstieres 18 g.

die als fixierte Punkte der Einzelkurven (jedes Versuchstieres) in das Ordinatensystem eingetragen werden können. In den graphischen Darstellungen (Abb. 2, 3, 4 und 6) zeigt die Ordinate jeweils die Anzahl der durch das Versuchstier ausgelösten Stromschlüsse (in vollen Hundert) an.

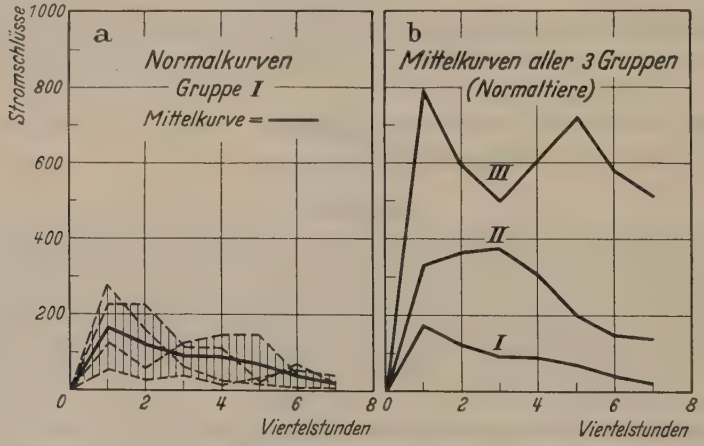


Abb. 2. Ordinate: Anzahl der Stromschlüsse. Abszisse: Zeit in Viertelstunden. a) Normalkurven von Gruppen I der Mäuse, - - - - Einzelkurve jedes Versuchstieres, — — — Mittelkurve, schattiertes Feld: Streuungsbereich der Motilität. b) Mittelkurven der 3 Gruppen von Normaltieren.

Bei dem schon unter physiologischen Verhältnissen verschiedenem Verhalten mehrerer Versuchstiere selbst annähernd gleicher Motilität war es notwendig, Versuchstiergruppen mit je 4 Mäusen zu bilden. Die fixierten Punkte der Kurve der mittleren Werte erhält man für jede Viertelstunde aus den Werten der Einzelkurven.

Motilität der Normaltiere.

Die in umfangreichen Vorversuchen bestätigte Tatsache sehr weiter Schwankungen in der normalen Motilität weißer Mäuse ließ es ratsam

erscheinen, in der von Forst angegebenen Weise eine Sortierung der Versuchstiere je nach ihrem Temperament vorzunehmen. So wurden 12 Tiere in 3 Gruppen zu je 4 Tieren eingeteilt. Gruppe I enthielt die faulsten Tiere, die während der zweistündigen Versuchsdauer höchstens fünfzehn mal hundert Stromschlüsse auslösten. In die Gruppe II kamen die Tiere von mittlerer Motilität, die fünfzehn bis dreißig mal hundert Stromschlüsse lieferten, in Gruppe III die lebhaften Tiere, die über fünfzig mal hundert Stromschlüsse auslösten. Für Pervitinvergleichsversuche wurde zu jeder der oben angegebenen Gruppen eine Parallelgruppe gleicher Motilität mit ebenfalls 4 Tieren gebildet (Gruppe Ia, IIa und IIIa). Im ganzen fanden also 24 Versuchstiere Verwendung. Abb. 1 zeigt aus jeder Gruppe einen typischen Vertreter. Die Originalkurvenausschnitte zeigen den Verlauf der ersten drei Viertelstunden des Versuches. Abb. 2a bringt die Einzelkurven für Gruppe I und 2b die Kurve der mittleren Werte aller drei Gruppen. Diese 6 Versuchstiergruppen mußten aus einer größeren Anzahl von weißen Mäusen ausgewählt werden.

Bei den Untersuchungen über die Normalmotilität der einzelnen Tiere zeigte sich, daß diese am Tage keine wesentlichen Schwankungen aufwies. In der Nacht, in der Zeit von 21 Uhr abends bis 5 Uhr morgens, konnte dagegen an 4 Versuchstieren eine ganz deutliche Motilitätssteigerung beobachtet werden. Insbesondere hielt sich die gesteigerte Motilität die ganzen 2 Std. über auf annähernd gleicher Höhe. Die Tiere ermüdeten also nicht so rasch. Diese Tatsache legt den Gedanken an einen schon physiologischerweise gesteigerten Erregungszustand der weißen Mäuse während der Nacht nahe.

Durch Pharmaka beeinflußte Tiere.

Bei der Erprobung von 3-tert. Butylamino-acrolein wurde zu jedem einzelnen Versuch ein Vergleichsversuch mit Pervitin unter den gleichen Bedingungen durchgeführt. Von Pervitin war ja eine sichere Wirkung zu erwarten, an der dann die Wirkung der neuen Substanz gemessen werden konnte. Die Versuche wurden immer in der Zeit von etwa 10 Uhr vormittags bis 16 Uhr nachmittags bei Tageslicht unter Ausschluß äußerer Reize durchgeführt. Sämtliche Substanzen wurden in wäßriger Lösung mittels einer Tuberkulinspritze in möglichst hoher Konzentration unter die Rückenhaut injiziert, um eine Belästigung des Tieres durch die entstehende Flüssigkeitsquaddel zu vermeiden.

Die Wirkung des 3-tert. Butylamino-acroleins wurde an normalen und an narkotisierten Mäusen erprobt. Die Bezeichnung der Gruppen mit römischen Ziffern in diesen Versuchsreihen bezieht sich auf die in den Vorversuchen festgestellten unterschiedlichen Motilitätsgrade der unbehandelten Versuchstiere. Die Gruppe I und Ia (faule Tiere) erhielt das 3-tert. Butylamino-acrolein bzw. das Pervitin unmittelbar vor Beginn der Registrierung zugeführt. Für die Erprobung der Beeinfluß-

barkeit eines mit Morphin hervorgerufenen Sedativzustandes wurden nur Tiere der Gruppe II, IIa (lebhafte Tiere von mittlerer Motilität) genommen, für die Erprobung der Beeinflußbarkeit der Urethannarkose die Tiere der Gruppe III, IIIa (lebhafte Tiere).

1. Normaltiere (Gruppe I).

a) Wirkung des 3-tert. Butylamino-acroleins.

In einem Vorversuch konnte eine 2500 g schwere, mit 70 mg/kg Körpergewicht Chloralose narkotisierte Katze durch Injektion einer Menge von 200 mg 3-tert.-Butylamino-acrolein innerhalb von 1 min nach der Injektion aus der Narkose geweckt werden.

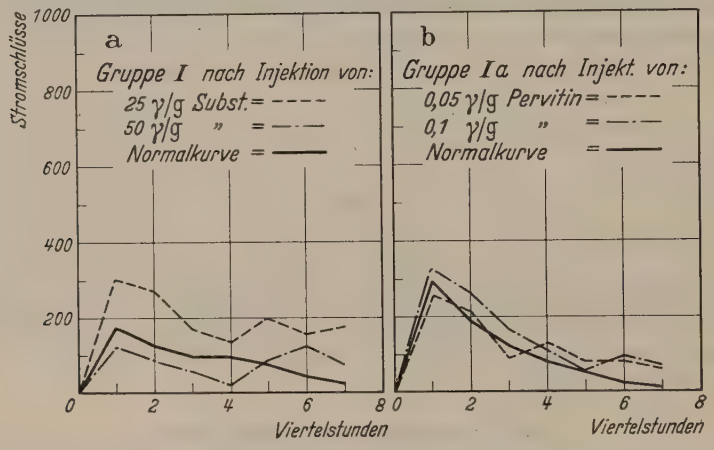


Abb. 3. Ordinate: Anzahl der Stromschlüsse. Abszisse: Zeit in Viertelstunden. a) Gruppe I der Mäuse nach Injektion von 25 γ pro Gramm Körpergewicht Substanz (3-tert.-Blutylamino-acrolein) - - - - -, nach Injektion von 50 γ pro Gramm Körpergewicht Substanz-.-.-, Normalkurve von Gruppe I— — —, b) Gruppe Ia der Mäuse nach Injektion von 0,05 γ pro Gramm Körpergewicht Pervitin - - - -, nach Injektion von 0,1 γ pro Gramm Körpergewicht Pervitin -.-.-., Normalkurve von Gruppe Ia — — —

Die wirksame Dosis der Substanz wurde auf 80—100 γ/g für die Maus gerechnet. Bei 100 γ/g zeigte eine Maus der trägen Klasse eine Erregbarkeitssteigerung, die vor allem mit fibrillären Muskelzuckungen und erhöhter Atemfrequenz zutage trat. Die Motilität änderte sich in diesem Falle nach der Injektion nicht, die Maus war eher noch träger als zuvor. (Diese Reaktion wurde als Krampfzustand gedeutet.) Weitere Vorversuche mit geringeren Dosen zeigten immer mehr die erwartete motilitätssteigernde Wirkung, optimal bei 25—50 γ/g.

Die Dosierungen mit 25 und 50 γ/g kamen bei der Gruppe I zur Anwendung. Eine Kumulation des Pharmakons im Organismus der Tiere konnte ausgeschlossen werden, da zwischen den beiden Injektionen mindestens 3 Tage Zwischenraum lagen. Die Toxizität des 3-tert. Butylamino-acroleins ist gering.

Zur Feststellung der *letalen Dosis* wurde ein 5stündiger Versuch durchgeführt, in dem die Ausgangsdosis von 50 γ/g in regelmäßigen Abständen von 20 min immer wieder nachinjiziert wurde. Dabei konnte keine Steigerung der Motilität festgestellt werden. Als eine Gesamtdosis von 300 γ/g erreicht war, wurden jeweils nur mehr 25 γ/g nachinjiziert, bis bei einer Gesamtdosis von 500 γ/g unter heftigen Zuckungen des Tieres plötzlich der Exitus erfolgte. Die letale Dosis des 3-tert.-Butylamino-acroleins liegt somit weit über der therapeutischen.

Bei Injektion von 25 γ/g an die 4 Tiere der Gruppe I zeigte sich bei 1 Tier keine nennenswerte Wirkung, bei den 3 übrigen Tieren jedoch eine Steigerung der Motilität, die zum Teil mehr als das Doppelte der normalen betrug. Meist konnte die Beobachtung gemacht werden, daß der Erregungszustand der Tiere nicht nur in einer verstärkten Lauftätigkeit zum Ausdruck kam, sondern vor allem auch in heftigen Putzbewegungen und in Erregbarkeitssteigerungen bis zu Luftsprüngen.

Nach 25 γ/g des 3-tert. Butylamino-acroleins war die Motilität der Tiere nicht nur anfangs deutlich erhöht, sondern hielt sich in der zweiten Hälfte des Versuches auf annähernd konstanter Höhe. Es kann also angenommen werden, daß die Substanz eine längere Wirkungsdauer hat und der normalerweise eintretenden Ermüdung der Tiere weitgehend entgegenwirkt.

Drei Tage später wurde die doppelte Dosis von 50 γ/g Körpergewicht gegeben. Hierbei waren die Tiere nicht mehr so lebhaft wie normal. Ihr Verhalten (ständige Krampfbereitschaft, fibrilläre Muskelzuckungen, erhöhte Atemfrequenz) ließ für diese Dosis bereits eine toxische Wirkung annehmen. Allerdings zeigt Abb. 3a gegen Ende des Versuches ein Ansteigen der Motilität, das über die Ausgangshöhe hinausgeht und in der sechsten Viertelstunde sogar mehr als das Doppelte der normalen Motilität beträgt, was als ein Nachlassen der toxischen Wirkung betrachtet werden kann. Nach den beiden Versuchsreihen waren alle 4 Tiere der Gruppe wohlauf. Auch in der Folgezeit ging kein einziges Tier zugrunde.

b. Wirkung des Pervitins.

Als Grundlage der Dosierung diente die übliche Menschendosis von 0,003 bis 0,006 g, die auf das g Maus umgerechnet zu einer Dosis von 0,05 und 0,1 γ führt.

Subkutane Injektion von 0,05 γ/g Pervitin führte bei 2 Tieren zu gar keinem Effekt. Bei den beiden anderen war jedoch die Wirkung, insbesondere in der zweiten Hälfte des Versuchs, deutlich (gestrichelte Kurve der Abb. 3b). Die doppelte Dosis (0,1 γ/g) Pervitin war wirksamer, und zwar bei allen 4 Tieren. Allerdings ist der Unterschied gegen die Normalmotilität bei weitem nicht so groß als beim 3-tert. Butylamino-acrolein. Außerdem läßt die durch das Pervitin hervorgerufene Motilitätssteigerung ungefähr parallel mit dem Abfallen der Normalmotilität wieder nach. Irgendwelche toxischen Symptome konnten

nicht festgestellt werden. Bei höheren Pervitindosen von 0,15 γ, 0,2 γ und 0,4 γ/g Körpergewicht konnte mit der zur Anwendung gekommenen Methodik keine Motilitätssteigerung registriert werden. Die Versuchstiere zeigten in diesen Fällen wie bei der Anwendung größerer Mengen von 3-tert. Butylamino-acrolein über 50 γ/g toxische Wirkungen. Nach Gaben von 10,5 γ/g Pervitin/g kam es unter heftigen Krampferscheinungen zum Exitus.

2. Morphintiere (Gruppe II).

Als günstigste Sedativdosis des Morphins wurde die in der Literatur[3] mit 1 γ/g angegebene gewählt. Sie wurde nach der ersten Viertelstunde

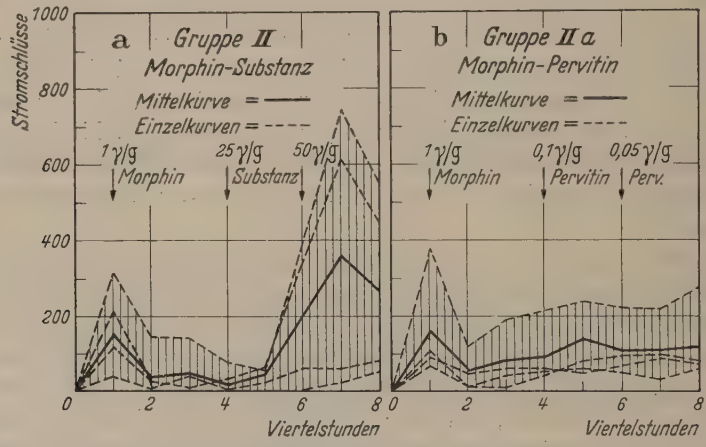


Abb. 4. Ordinate: Anzahl der Stromschlüsse. Abszisse: Zeit in Viertelstunden. a) - - - - - - - Einzelkurven der Versuchstiere nach 1 γ/g Morphin, sowie Gaben von 25 und 50 γ/g 3-tert.-Butylamino-acrolein. — — — Mittelkurve. Schattiertes Feld: Streuungsbereich. b) - - - - - - - Einzelkurven der Versuchstiere nach 1 γ/g Morphin, sowie Gaben von 0,1 und 0,05 γ/g Pervitin. — — — Mittelkurve. Schattiertes Feld: Streuungsbereich.

des Versuches gegeben und dieser auf neun Viertelstunden ausgedehnt. Eine Stunde sollte der durch Morphin erzeugte Sedativzustand währen, um dann in der zweiten Stunde durch zweimalige Gaben von 3-tert. Butylamino-acrolein oder Pervitin aufgehoben zu werden.

a. Wirkung des 3-tert.-Butylamino-acroleins.

Wie aus den Abb. 4a und b ersichtlich ist, stellte sich bei fast allen Tieren unmittelbar nach der Morphin-Injektion eine weitgehende Herabsetzung ihrer Motilität ein. In diesem Stadium trat die von Straub beschriebene Schwanzreaktion für einige Zeit deutlich in Erscheinung. Kurz nach der ersten Injektion von 25 γ/g 3-tert. Butylamino-acrolein trat bei zwei Tieren eine enorme, weit über das Normale hinausgehende Motilitätssteigerung ein. (Siehe Abb. 5a.) Bei einem Tier

war diese Steigerung weit weniger deutlich, und bei dem letzten blieb sie völlig aus. Nach einer weiteren halben Stunde erfolgte die Injektion von 50 γ/g der gleichen Substanz. Hier steigerte sich bei den beiden ersten Tieren die Motilität noch weiter, bei den beiden anderen nur gering.

Aus Abb. 4a kann entnommen werden, daß auch nach vorheriger Morphinverabreichung durch Gaben von 3-tert. Butylamino-acrolein eine Motilitätssteigerung erzielt wurde, die auf ihrem Gipfelpunkt mehr als das Doppelte der normalen Ausgangsmotilität betrug. Bei den beiden Tieren, die am stärksten erregt wurden, führte sie bis zu häufigen Luftsprüngen.

Abb. 5. Unterschiedliche Wirkungen der Substanz 3-tert. Blutylamino-acrolein und des Pervitins. a) Körpergewicht des Versuchstieres von Gruppe II: 24 g. 1. Viertelstunde Normalkurve, dann Wirkung von 1 γ/g Morphin, Aufhebung der Morphinwirkung durch 25 und 50 γ/g 3-tert.-Butylamino-acrolein. b) Körpergewicht des Versuchstieres von Gruppe IIa: 24 g. Gleiches Versuchstier wie unter a) 1. Viertelstunde Normalkurve, dann Wirkung von 1 γ/g Morphin, keine Beeinflussung der Morphinwirkung durch 0,1 und 0,05 γ/g Pervitin.

b) Wirkung des Pervitins.

Bei Gruppe IIa wurde nach Vorbehandlung mit Morphin zuerst 0,1 γ/g Pervitin und dann eine halbe Stunde später 0,05 γ/g Pervitin gegeben. Hier war die Wirkung bei weitem nicht so deutlich wie bei 3-tert. Butylamino-acrolein (siehe Abb. 5). Nur in einem Fall trat schon nach der ersten Pervitin-Injektion eine deutliche Reaktion ein, und in einem anderen Fall erst nach der zweiten. Der Gipfelpunkt der Ausgangsmotilität konnte durch die Pervitingaben nicht überschritten werden.

3. Urethantiere (Gruppe III).

Bei Urethan führte die Umrechnung der in der Literatur angegebenen Menschendosis in den Bereich von 60 γ/g Körpergewicht. Diese Dosis erwies sich aber

als nicht wirksam. Erst die 4fache Dosis führte bei der Mehrzahl der Tiere zu dem gewünschten Effekt.

Dies entspricht wohl einer von Straub[4] beobachteten Tatsache, daß nämlich deutlich oder auch nur unvollständig wirksame Mäusedosen insbesondere von Hypnotika und Antipyretika auf das durchschnittliche Körpergewicht des Menschen umgerechnet, meist zu viel zu hohen Dosen führen.

Die Tiere bekamen also wieder nach der ersten Viertelstunde des Versuches 250 γ/g Körpergewicht Urethan injiziert. Die Wirkung wurde eine Stunde registriert und dann in aufeinanderfolgenden Injektionen 3-tert.-Butylamino-acrolein oder Pervitin gegeben.

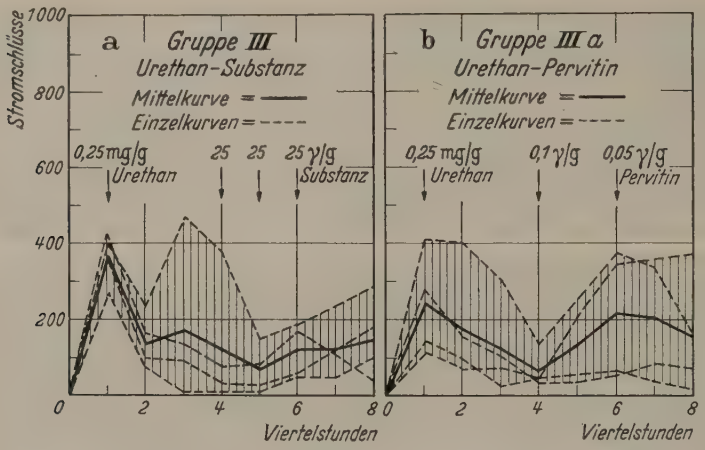


Abb. 6. Wirkungslosigkeit von 3-tert.-Butylamino-acrolein und Pervitin bei Urethan. Ordinate: Anzahl der Stromschlüsse. Abszisse: Zeit in Viertelstunden. a) - - - - - - - Einzelkurven der Versuchstiere von Gruppe III nach Gaben von 0,25 mg/g Körpergewicht Urethan, sowie mehrfachen Injektionen von 25 γ/g 3-tert.-Butylamino-acrolein. — — — Mittelkurve. Schattiertes Feld: Streuungsbereich. b) - - - - - - - Einzelkurven der Versuchstiere von Gruppe IIIa nach Gaben von 0,25 mg/g Urethan, sowie Injektion von 0,1 und 0,05 γ/g Pervitin. — — — Mittelkurve. Schattiertes Feld: Streuungsbereich.

Beide Kurven der mittleren Werte in Abb. 6 lassen erkennen, wie durch das Urethan ebenfalls eine Herabsetzung der Motilität, wenn auch nicht so deutlich wie durch Morphin, erzielt werden konnte.

Einmal wurde einem Tier aus Versehen eine 3fach zu hohe Urethandosis injiziert. Daraufhin verfiel es nicht, wie zu erwarten war, in einen tiefen Schlaf, sondern geriet in einen enorm gesteigerten Erregungszustand und lief immer im Kreis umher, wie es sonst nach Verabreichung von höheren Morphindosen der Fall ist. Das Tier erholte sich und war am anderen Tag wieder vollkommen normal.

a) Wirkung des 3-tert.-Butylamino-acroleins.

Auf die erste Gabe von 25 γ/g 3-tert.-Butylamino-acrolein reagierte kein einziges Tier in der erwarteten Weise, so daß eine Viertelstunde später eine nochmalige und im Abstand einer weiteren Viertelstunde

eine dritte Injektion der gleichen Dosis erfolgte, womit die Gesamtdosis 75 γ/g Körpergewicht erreicht war. Die zweite Injektion löste bei allen 4 Tieren ein leichtes Ansteigen der Motilität aus. Dies setzte sich mit Ausnahme von 1 Tier auch nach der dritten Injektion bis zur Beendigung des Versuches noch fort. Der Gipfelpunkt der Normalmotilität wurde allerdings bei weitem nicht erreicht (siehe Abb. 6a).

b) Wirkung des Pervitins.

Hier war der Effekt (Abb. 6b) sehr viel deutlicher. 2 Tiere wurden nach der ersten Gabe von 0,1 γ/g Pervitin wesentlich lebhafter, 2 andere Tiere nicht. Die zweite Pervitin-Injektion von 0,05 γ/g führte nur bei einem der beiden zuerst genannten Tiere zu einem weiteren leichten Motilitätsanstieg, bei dem anderen fiel sie rasch ab. Die beiden weiteren Tiere reagierten in kaum merklicher Weise. Die Kurve der mittleren Werte erreicht auch beim Pervitin in der zweiten Stunde des Versuchs nicht ganz den Gipfelpunkt der Normalmotilität.

Blutdruckwirkung des 3-tert.-Butylamino-acroleins.

Zur Aufklärung der Blutdruckwirkung des 3-tert.-Butylamino-acroleins wurden fortlaufende Blutdruckregistrierungen an mit 70 mg/kg Chloralose narkotisierten Katzen durchgeführt. Die Substanz wurde in die Vena jugularis injiziert. Bei einer Dosis von durchschnittlich 40 γ/g erwachten die Tiere aus der Narkose. Der Blutdruck blieb dabei völlig unbeeinflußt. Auch bei Wiederholung der Injektion bis zur Erreichung einer Gesamtdosis von 200 γ/g änderte sich die Blutdruckkurve nicht. Die Weckwirkung ohne Blutdruckveränderung wurde an Chloralose-Katzen vielfach und regelmäßig reproduziert, wobei gleiches Verhalten bei allen Ausgangshöhen des Blutdrucks, die zwischen 150 und 250 mm Hg lagen, festzustellen war.

Wenn es auch ratsam erscheint, in Anbetracht der relativ geringen Anzahl von Versuchstieren in der Bewertung der Motilitätsunterschiede etwas zurückhaltend zu sein, so darf doch die Vermutung geäußert werden, daß das 3-tert.-Butylamino-acrolein eine steigernde Wirkung auf die Motilität weißer Mäuse hat, die die des Pervitins in manchen Punkten zu übertreffen scheint.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine neue chemische Substanz mit einer zentral erregenden Wirkung beschrieben: 3-tert.-Butylamino-acrolein.

2. Bei der Motilitätsmessung an frei beweglichen weißen Mäusen nach Forst zeigen sie ein sehr unterschiedliches Verhalten ihrer Normalmotilität. Nachts ist bei allen Tieren die Motilität wesentlich gesteigert.

3. Die geprüfte Substanz steigerte die Motilität der Versuchstiere deutlich. Als wirksamste Dosis erwies sich 25 γ/g Körpergewicht.

4. Ein durch Morphin erzeugter Sedativzustand wurde durch 3-tert.-Butylamino-acrolein prompt aufgehoben, dabei die Motilität weit über

das Normale hinaus gesteigert. Mit Pervitin gelang dies nicht in überzeugender Weise.

5. Ein durch Urethan herbeigeführter Sedativzustand konnte durch 3-tert. Butylamino-acrolein nicht durchbrochen werden, wohl aber durch Pervitin.

6. Das 3-tert. Butylamino-acrolein hat im Gegensatz zum Pervitin keine blutdrucksteigernde Wirkung.

Literatur.

[1] Wille, F., u. L. Saffer: Liebigs Ann. **568**, 34 (1949). — Wille, F.: Angew. Chem. **62**, 343 (1950). — [2] Forst, A. W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 257 (1938). — [3] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 257 (1938). — [4] Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 481 (1940).

Professor Dr. Fritz Zinnitz, München 15, Ziemssenstr. 1a.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 69—71 (1951).

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel.

Über ein antispastisches Prinzip in Petasites officinalis Moench.

Von

KARL BUCHER.

(Eingegangen am 23. November 1950.)

Petasites ist bisher nur selten bearbeitet worden[1, 2, 3] und hat unseres Wissens noch nie pharmakologisches und nur selten klinisches Interesse gefunden. Andererseits wurde von gewissen Laienkreisen, neuerdings aber auch gelegentlich von ärztlicher Seite, betont, daß Pestwurz gelegentlich therapeutisch nützlich sei. In jüngster Zeit sind denn auch wieder Präparate aus Pestwurz in den Handel gekommen (z. B. „*Rhazesan*" der Petazon A.-G., Basel). In Anbetracht dieser Sachlage haben wir die Pestwurz einer orientierenden *pharmakologischen* Analyse unterzogen und dabei unter anderem festgestellt, daß in dieser Pflanze ein antispastisches Prinzip vorkommt. Wir möchten die dieses Prinzip betreffenden pharmakologischen Daten nachfolgend kurz mitteilen, in der Idee, damit die erneute *chemische* Bearbeitung von Pestwurz anzuregen.

Die frisch ausgegrabenen Wurzeln von Petasites zweier verschiedener Standorte (A und B) wurden möglichst schonend fein zerschnitten, mit Warmluft von etwa 50° schnell getrocknet und dann während etwa 11 Std mit dem etwa 10fachen Gewicht Methylalkohol bei 82—85° im SOXHLET extrahiert. Die resultierende zähflüssige Masse wurde im Exsikkator solange über Schwefelsäure stehen gelassen, bis anscheinend kein weiteres Wasser mehr abgegeben wurde. Die Ausbeute an diesem Rohextrakt betrug etwa 10% der frischen Wurzel; die Masse selbst war karamelartig und stark hygroskopisch. Zur pharmakologischen Untersuchung wurde das Filtrat einer 20%igen „Verreibung" in Wasser verwendet. Es enthielt den Rohextrakt zu etwa 9 Zehnteln gelöst. Da sich die Wirkstoffe in Wasser nur als beschränkt haltbar erwiesen, wurde die Lösung jeden Tag frisch zubereitet.

Antispastische Wirkung.

Das antispastische Prinzip kann am isolierten Meerschweinchendarm in vitro leicht nachgewiesen werden. Da die Wirkung jedoch eine außerordentlich lange Latenzzeit hat, muß das übliche Procedere etwas modifiziert werden. Wir haben diesem Umstand dadurch Rechnung getragen, daß wir den zu prüfenden Rohextrakt während 5 min einwirken ließen und dann testeten, inwiefern die spasmogenen Stoffe Histamin, Azetylcholin und Bariumchlorid den Darm noch zu kontrahieren vermögen. Histamin und Azetylcholin wurden in Endkonzentration $5 \cdot 10^{-8}$, Bariumchlorid in Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ angewendet. Die dadurch hervorgerufenen Kontrakturzustände sind — bei aller qualitativen Verschiedenheit — quantitativ etwa gleichstark. Gesucht wurden

nun diejenigen Konzentrationen an Rohextrakt, welche diese Kontrakturen eben vollständig zu unterdrücken vermögen. Die so ermittelten Werte sind in Tab. 1 zusammengestellt. Als Vergleichssubstanz wurde — aus später ersichtlichen Gründen — Papaverin gewählt. Es verdient erwähnt zu werden, daß die angegebenen Grenzkonzentrationen im allgemeinen gleichzeitig *jegliche* Ansprechbarkeit des Darmes auf Histamin, Azetylcholin bzw. Bariumchlorid aufheben. In diesem Moment sind demnach meist auch sehr viel höhere Konzentrationen Histamin, Azetylcholin bzw. Bariumchlorid wirkungslos. Mehrmaliges Wechseln der Badeflüssigkeit hingegen gibt dem Darm seine normale Empfindlichkeit ohne weiteres wieder zurück.

Tabelle 1.

	Der normalerweise durch		
	Histamin- dihydrochlorid in Konz. $5 \cdot 10^{-8}$	Acetylcholinchlorid in Konz. $5 \cdot 10^{-8}$	Bariumchlorid in Konz. $2 \cdot 10^{-4}$
	induzierte Spasmus wird eben vollständig verhindert durch		
Rohextrakt A	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Rohextrakt B	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$
Papaverin hydrochl. . . .	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$

Nach Tab. 1 hat das antispastische Prinzip aus Pestwurz *qualitativ* einen ähnlichen Wirkungscharakter wie Papaverin, d. h. es beeinflußt alle drei geprüften Spasmenformen in etwa gleichem Maße. *Quantitativ* wirkt der Rohextrakt B etwa gleichstark wie die Reinsubstanz Papaverin. Der eigentliche Träger der antispastischen Wirkung könnte daher sehr wohl ein um ein Vielfaches wirksamerer Körper sein. Der Gehalt der Pflanze an Wirkstoff kann — wie zu erwarten war — je nach Standort variieren (A und B); er dürfte wohl auch jahreszeitliche Schwankungen aufweisen.

Toxizität.

Obwohl zunächst nur Rohextrakte zu unserer Verfügung standen, haben wir versucht, zu einer Vorstellung von der therapeutischen Breite des antispastischen Prinzips zu kommen. Wir haben dazu an Meerschweinchen im Gewicht von etwa 250 g die akute Toxizität bei einmaliger intraperitonealer Verabreichung geprüft; der wirksamere der beiden Extrakte wurde außerdem auch weißen Mäusen — von etwa 20 g Gewicht — intravenös und peroral verabreicht. Die Resultate wurden — an einem möglichst ähnlichen Tiermaterial — wiederum mit Papaverin verglichen. Sie sind in Tab. 2 wiedergegeben. (Die Prüfungen erstreckten sich auf 70 Meerschweinchen und 150 Mäuse.)

Wenn wir aus den Tab. 1 und 2 zunächst einmal die therapeutischen Breiten für Meerschweinchen errechnen, so präsentieren sich die Pestwurz-Rohextrakte vorteilhafter als Papaverin. Rohextrakt A ist zwar

Tabelle 2.

	D. L. 50 acuta (in g/kg)		
	Meerschw.	Mäuse	
	i. p.	i. v.	p. o.
Rohextrakt A	5,000		
Rohextrakt B	0,300	0,060	2,500
Papaverin hydrochl. . . .	0,100	0,025	0,400

antispastisch nur ein Fünftel so wirksam, andererseits aber nur ein Fünfzigstel so giftig; er hat demnach eine zehnmal größere therapeutische Breite. Die therapeutische Breite des antispastisch wirkungsgleichen Rohextraktes B ist nach der gleichen Betrachtung etwa dreimal größer als die des Papaverins. Für B läßt sich außerdem aus den intravenösen Toxizitätswerten an der Maus und der antispastischen Wirksamkeit am Meerschweinchen ein therapeutischer Koeffizient errechnen. Er ergibt ein etwa ähnliches Resultat, d. h. läßt den Rohextrakt als etwa zweieinhalbmal günstiger erscheinen als Papaverin.

Wenn man annimmt, daß der antispastischen Wirksamkeit der beiden Rohextrakte der gleiche Körper zugrunde liegt, so muß die Tatsache der ungleichen therapeutischen Breite dahin ausgelegt werden, daß die Giftigkeit der Extrakte nicht allein durch das antispastische Prinzip bedingt sein kann. Damit aber besteht eine gewisse Aussicht, daß man bei weiterer Reinigung dieses Prinzips die therapeutische Breite desselben eventuell noch weiter wird verbessern können.

Bei peroraler Applikation an der Maus ist der Rohextrakt B etwa vierzigmal, Papaverin etwa sechzehnmal weniger giftig als bei intravenöser Verabreichung. Die toxischen Komponenten des Rohextraktes in ihrer Gesamtheit sind demnach nur ein drittel bis einhalbmal so gut resorbierbar wie Papaverin. Da aber — siehe oben — die Giftigkeit des Rohextraktes nicht allein durch das darin enthaltene antispastische Prinzip verursacht ist, kann damit über die Resorbilität des letzteren noch nichts ausgesagt werden.

Zusammenfassung.

In Petasites officinalis Moench kommt ein antispastisches Prinzip vor, das qualitativ ähnlich wie Papaverin wirkt. Es dürfte quantitativ bedeutend wirksamer sein als Papaverin und eine günstigere therapeutische Breite haben. Seine chemische Natur ist zur Zeit noch unbekannt.

Literatur.

[1] Schlagdenhauffen et Reeb: J. Pharmacie d'Alsace-Lorraine **1885**, 237. — [2] Gillot, P., et E. Legras: Bull. Sci. pharmacol. **34**, 205 (1927). — [3] Zellner, J.: Arch. Pharmaz. **272**, 601 (1934).

Prof. Dr. Karl Bucher, Pharmakologische Anstalt der Universität Basel.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 72—81 (1951).

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
(Direktor Professor Dr. N. Henning).

Die Bedeutung der intrahepatischen Pfortaderäste für die Depotfunktion der Leber*.

Von
Ludwig Demling und Hans Kinzlmeier.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Dezember 1950.)

Der überragende Einfluß der Bauchorgane auf den Gesamtstrom des Blutes beruht zum großen Teil auf der Fähigkeit dieser Organe, die Kapazität ihrer Blutbahnen weitgehend zu ändern (K. Hürthle). Insbesondere trifft dieser Satz für die Leber zu, deren Funktion als Blutspeicher zweiter Ordnung (H. Rein) bekannt ist. Der Nachweis dieser Eigenschaft geschah durch Messung des variablen Lebervolumens, durch Feststellung der ein- und ausströmenden Blutmenge (W. Grab, S. Janssen und H. Rein) und die CO-Methode von Barcroft.

Über das Verhalten der intrahepatischen Gefäße selbst liegen in diesem Zusammenhang nur spärliche Berichte vor. Die Untersuchungen von Mautner und Pick führten vor 35 Jahren zu der Annahme, daß an den Venae hepaticae der Karnivoren ein Sperrmechanismus vorhanden sein müsse, der unter dem Einfluß von Schockgiften eine Leberausflußsperre bewirkt. Das anatomische Substrat dieser Funktion wurde in Form von Muskelfasern durch Simmonds am Tier beschrieben und für die menschliche Leber von Tischendorf kürzlich sichergestellt. Eine Verkleinerung der Leber nach Gabe von Sympathicomimetica (Einflußsperre) wurde von anderen Autoren beschrieben. An der aktiven Mithilfe der Lebergefäße, an dem Füllungszustand dieses Organs, besteht daher kein Zweifel. Das gilt besonders für die relativ muskelreicheren Venae hepaticae (Miyake).

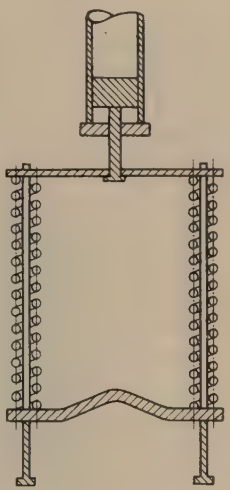
Eine Darstellung der hepatalen Gefäße am lebenden Tier unter dem Einfluß bestimmter Gifte ist bisher in nur sehr beschränktem Umfang von einigen amerikanischen Autoren vorgenommen worden. Du Mais injizierte die Lebergefäße am überlebenden Tier mit „Neopren latex". Nach Entfernung des Gewebes (Korrosionspräparat) fand der Autor ringförmige (muskulär bedingte) Einschnürungen an allen Teilen des Gefäßausgusses, beim Hunde deutlicher als bei der Ratte und bei den Lebervenen ausgesprochener als bei den intrahepatalen Pfortaderver-

* Für freundliche Beratung danken wir Herrn Professor v. Hayek, Prosektor am Anatomischen Institut der Universität Würzburg. Die Anfertigung der photographischen Aufnahmen hat Herr Dr. Polzien, Assistent an unserer Klinik übernommen.

zweigungen. Vinylazetat als Injektionsmaterial verwendeten Thomas und Essex ebenfalls, um den Gefäßbaum der Hundeleber darzustellen. In eindrucksvollen Bildern gelingt es ihnen, die Unterschiede zwischen dem Normalfall und dem im allergischen Schock oder unter Histamineinfluß stehenden Tier zu demonstrieren. Korkzieherartige Einschnürungen an den Ausgüssen der kleineren Lebergefäße können im Schock nachgewiesen werden. Wenn auch nach Du Mais die Lebergefäße der Ratte weniger deutlich reagieren als die des Hundes, haben wir aus äußeren Gründen die Ratte als Versuchstier gewählt. Die Reaktionsfähigkeit der intrahepatalen Pfortaderverzweigungen nachzuweisen und ihr Verhalten auf verschiedene Reize im Ausgußpräparat festzuhalten, war das Ziel der im folgenden beschriebenen Versuche.

Methodik.

Da sich 2 zunächst verwendete Vinylazetatpräparate (Hoechst und Bender-Hobein, Zürich) nicht bewährten, haben wir als Injektionsmasse in Azeton gelöstes Zelluloid von der Konsistenz dünnflüssigen Honigs (Viskosität um 1000) benützt. Die genannte Substanz wird aus einer Rekordspritze durch eine nicht zu lange Kanüle in die Pfortader eines laparatomierten Tieres injiziert und zwar solange, bis die Azetonlösung aus der Einstichöffnung neben der Kanüle rückläufig herausquillt. Auf eine Einbindung der Nadel wurde bewußt verzichtet, einmal, um den portalen Blutstrom nicht vorzeitig zu hemmen, und zum anderen, um durch den Rückstrom der Injektionsmasse einen übermäßigen Druck in den Gefäßen zu vermeiden. Vor dem Überfließen der Azetonlösung aus der Einstichöffnung setzte immer ein Rückfluß in die venösen Mesenterialgefäße ein, durch den gleichfalls ein Überdruck hintangehalten wurde. Zur Bestätigung kennzeichnender Unterschiede von Gefäßausgüssen, die unter verschiedenen Bedingungen gewonnen wurden, erfolgten Injektionen unter gleichem Druck mit Hilfe der skizzierten einfachen Vorrichtung (Strichzeichnung). Wegen der hohen Viskosität des Azetonklebers mußte ein kräftiger Druck (6 kg) auf die federnd gelagerte Stempelplatte ausgeübt werden, der natürlich am Kanülende und in den Gefäßen selbst während der Injektion nicht annähernd erreicht wurde. Übrigens ergab die Einfüllung bei gleichem Druck keine anderen Ergebnisse. Gefäßrupturen entstanden kaum. Sie konnten an den Ausgüssen im allgemeinen leicht erkannt werden. Der ganze blutige Eingriff am Versuchstier dauerte knapp 60 sec. Die Injektion selbst wurde in jedem Falle überlebt.



Das gefüllte Organ und allenfalls das Darmpaket wurde aus dem nach der Injektion getöteten Tier herausgenommen und für 24—48 Std in rohe Salzsäure gelegt. Dann konnte das Korrosionspräparat von den Organbestandteilen mit kaltem Wasser befreit werden. Die medikamentöse Beeinflussung begann längere oder kürzere Zeit vor der Injektion. Mit Äther wurde die Narkose bei geringstmöglicher Tiefe durchgeführt. Tiefe Narkose setzte die Reaktionsfähigkeit der intrahepatischen Gefäße deutlich herab.

Versuchsergebnisse.

Insgesamt wurden 172 Gefäßausgüsse hergestellt, davon 23mal am unbeeinflußten Tier. Das normale Korrosionspräparat entsteht aus etwa 0,8 cm^3 Zelluloidlösung bei einem Lebervolumen von 7—8 cm^3. Das Gebilde kann am ehesten mit einer Baumkrone verglichen werden (Abb. 1). Vom Pfortaderstamm ausgehend, der am trockenen Ausgußpräparat einen Durchmesser von etwa 1,5 mm hat, gehen Zweige in geringerer Dicke ab, um sich schließlich in feine Reiserchen von etwa $^1/_{10}$ mm Durchmesser aufzuspalten. Diese sitzen in geringen Zwischenräumen an den nächstgrößeren Gefäßen (bis zu 20 an einer 5 mm langen Strecke) und verleihen dem Ausguß ein geschlossenes, abgerundetes Aussehen. Die kleinsten Äste stellen die Venae interlobulares dar. Kapillaren können mit unserer Injektionsmasse nicht gefüllt werden. Die Ausgüsse der größeren Gefäße sind nicht immer rund, sondern erscheinen infolge des Schrumpfungsprozesses, bei dem nur das Zelluloid übrigbleibt, während das Azeton in das Gewebe diffundiert, manches Mal bandartig deformiert. Deswegen entsprechen die Füllungen dem wahren Gefäßdurchmesser nicht absolut. Die vergleichende Untersuchung der Korrosionspräparate ist jedoch ohne weiteres möglich. Das Normalpräparat erscheint kleiner als die Leber. 3 cm Länge, 2 cm Breite und 2 cm Tiefe charakterisieren die Ausdehnung eines mittelgroßen Ausgusses, der die Tendenz zeigt, unter relativer Zunahme der Tiefe sich gegenüber dem nativen Organ abzurunden.

Ein bemerkenswerter Unterschied besteht zwischen dem am lebenden und am toten Tier gewonnenen Präparat. Im Gegensatz zu dem vitalen Gefäßausguß zeigt das an der Leiche dargestellte Gefäßgebiet eine dichtere und etwas zartere Verästelung. Insbesondere sind die Venae interlobulares tiefer gefüllt. Der aufzuwendende Injektionsdruck ist geringer als beim lebenden Tier, und die einströmende Flüssigkeitsmenge ist verhältnismäßig groß. Diese Erscheinungen dürften ihre Ursache in dem mangelnden Tonus der Leichengefäße haben.

Wird von der Hohlvene her kurz nach der Pfortaderfüllung injiziert, so dringt die (andersfarbige) Zelluloidlösung retrograd in die Lebervenen, wobei die Rückstauung im rechten Herzen ihr eigentliches Widerlager findet. Der Lebervenenausguß gleicht im wesentlichen dem eingangs beschriebenen Pfortaderpräparat. Bei Doppelinjektion verschränken sich beide Ausgüsse fächerförmig, jedoch ohne daß eine Verbindung zwischen beiden Systemen zustande kommt. Die Lücke entsteht durch das nicht gefüllte Kapillargebiet. In den folgenden Untersuchungen wurden vor allem die intrahepatischen Pfortaderverzweigungen auf ihre Reaktionsfähigkeit untersucht. Das Hauptaugenmerk richteten wir in dieser Studie auf die Beeinflussung des intrahepatischen Portalgebietes durch vegetativ wirksame Pharmaka.

Es ist seit langem bekannt, daß Adrenalin, abgesehen von kleinsten einmaligen Dosen, die Leber zur Entleerung bringt und verkleinert (Grab, Janssen und Rein, Emery und Griffith). Emery und Griffith nehmen mit Wahrscheinlichkeit an, daß auch die Pfortaderverzweigungen selbst durch Adrenalin kontrahiert werden.

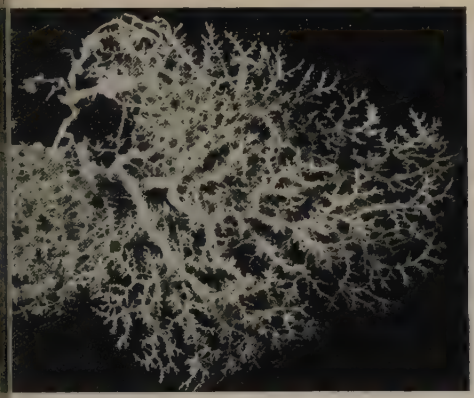


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Normales Korrosionspräparat (etwa $2^1/_2$-fache natürliche Größe).

Abb. 2. Leberausguß eines seit 40 min unter Nor-Ephedrineinfluß (3 mg/kg) stehenden Versuchstieres. Während die Hauptäste von annähernd normaler Größe sind, erscheinen die kleinen Gefäße, insbesondere die Venae interlobulares schwach gefüllt.

Wir haben Untersuchungen mit Nor-Ephedrin durchgeführt. Abb. 2 zeigt einen Ausguß, der von einem seit 40 min unter Nor-Ephedrineinfluß (3 mg/kg) stehenden Tier stammt. Es zeigt sich eine erhebliche

Abb. 3. Rechts ein normales, von den kleineren Zweigen befreites Korrosionspräparat, links ein ebenfalls ausgeschnittenes Korrosionspräparat, das von einem Versuchstier stammt, welches unter dem Einfluß von Sympathicolyticum „Ciba" stand.

Rarefizierung der feineren Verzweigungen. Sie sind entweder verkümmert dargestellt oder überhaupt nicht gefüllt. Das „Bäumchen" büßt dadurch sein geschlossenes, kompaktes Aussehen ein, der etagenförmige Aufbau ist einer mehr flächigen Ausbreitung der dickeren Äste gewichen.

Die Hauptzweige selbst sind nur wenig dünner als die des Normalpräparates. Von der Kontraktion sind hauptsächlich die Venae interlobulares und die nächstgrößeren Gefäße betroffen. Die Leber eines mit Nor-Ephedrin vorbehandelten Tieres nimmt nicht ganz die Hälfte der normalen Injektionsmasse auf. Dieses Ergebnis paßt damit in den Rahmen der bisherigen Vorstellungen.

Die letzten Jahre haben die Entdeckung einiger wichtiger sympathikolytischer Substanzen gebracht. Ein von der Firma „Ciba" zu klinischen Untersuchungen freigegebenes Präparat, ein Imidazolinabkömmling[1], zeigt in hohem Maße sympathikolytische Wirkung. Seine Indika-

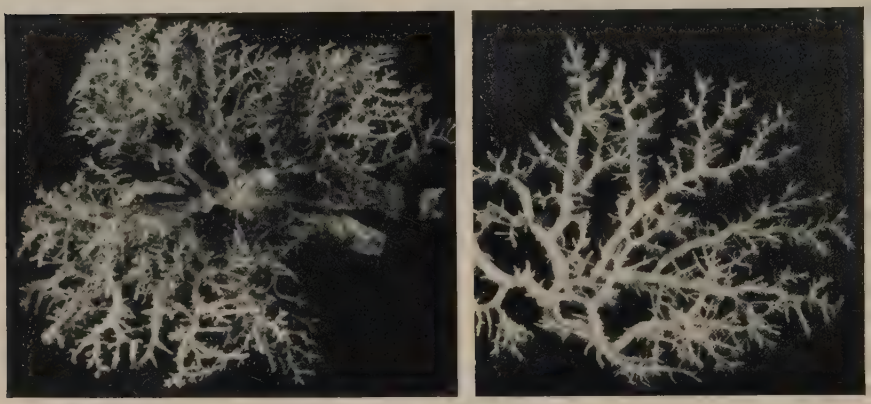


Abb. 4. Sympathicolyticum „Ciba" (5—10 mg/kg) dilatiert zunächst die Hauptäste, während die kleineren Gefäße sich schlecht füllen (nach 10—20 min): Siehe rechte Bildhälfte. — Etwa 40—50 min nach der Gabe von Sympathicolyticum „Ciba" sind nicht nur die Hauptgefäße sondern auch die feineren Äste deutlich dilatiert: Siehe linke Bildhälfte.

tionsgebiete sind Hypertension und Gefäßspasmen. In früheren Untersuchungen konnten wir feststellen, daß 5—10 mg/kg dieser Substanz zu einem jähen Druckabfall in der Pfortader führten. Pfortaderinjektionen, verschieden lange Zeit nach der Gabe des Pharmakons (5—10 mg/kg), ließen einen zweiphasigen Reaktionsablauf an den Gefäßen erkennen. 10 und 20 min nach der Gabe des Sympathicolyticums war eine erhebliche Dilatation der gröberen Äste festzustellen, während die kleineren Zweige diese Erscheinungen nicht zeigten, sondern im Gegenteil nur in geringer Zahl gefüllt waren, ohne jedoch völlig die gleiche Verkümmerung wie unter Nor-Ephedrineinfluß zu zeigen. Abb. 3 zeigt rechts ein normales „Bäumchen", an dem wie bei dem anderen Präparat die feinen Reiser entfernt wurden. Das linke Präparat wurde unter der Einwirkung des Sympathicolyticums „Ciba" gewonnen und läßt den erwähnten

[1] Hydrochlorid des 2-N, p-Tolyl-N-(m'-oxy-phenyl)-aminomethyl-imidazolins. Versuchspräparat Nr. 7337, Lit.: R. Meier u. H. J. Bein, Bull. Schweiz. Akad. Med. Wissensch. Vol. 6, Fasc. 3/4, P. 209 (1950).

Effekt deutlicher erkennen. Nach 40 min etwa nimmt auch die Füllung der kleinen Ästchen zu, die nun gleichfalls dicker werden, als es der Norm entspricht (Abb. 4). Nunmehr kann auf eine kräftige Füllung des ganzen Gefäßgebietes geschlossen werden, und der Unterschied gegenüber dem Nor-Ephedrinpräparat ist offensichtlich. Die Leber nimmt in diesem Zustand fast das Doppelte der normalen Injektionsmenge auf.

Ein gleichfalls sympathikolytisch wirksamer Stoff ist das Dibenamin (Nordmark). Die ersten Erfahrungen mit diesem Stoff veröffentlichten 1946 Nickerson und Goddmann und 1948 Spühler, Walther und Brunner. Dibenamin bewirkt nach langsamem Eintritt (30—60 min) des maximalen Effektes eine Blockade der sympathischen Nervenendigungen, die mehrere Tage anhalten kann. Klinisch wird das Medikament zur Behandlung von Gefäßkrämpfen und zur Bekämpfung der Hypertension verwendet.

Abb. 5. Dibenamin (25 mg/kg) bewirkt während der ersten 30 min eine deutliche Konstriktion aller intrahepatischen Pfortaderäste, nach etwa 60 min ist dieser Initialeffekt abgeklungen.

Das Präparat wurde von uns meist subkutan verabreicht, da am nicht laparatomierten Tier die intravenöse Gabe nicht immer gelang. Die Dosierung betrug 25 mg/kg. Auch in diesem Falle war eine zweizeitige Wirkung zu verzeichnen, jedoch begann der Effekt nicht mit einer Erweiterung der Hauptäste, sondern mit einer deutlichen Verengerung aller Zweige (siehe Abb. 5). Der baldige portale Druckanstieg nach (intravenöser) Dibenamingabe, den wir früher festgestellt haben, kann mit dieser Gefäßkonstriktion wohl teilweise erklärt werden. Aber ebenso wie bei dem Sympathicolyticum „Ciba" zeigen längere Zeit (30 bis 60 min) nach Dibenaminverabreichung angefertigte Ausgüsse eine zunehmende Füllbarkeit der anfänglich verkümmerten kleinen Reiser. Die größeren Äste normalisieren sich zwar, überschreiten aber nur wenig den normalen Umfang. Nach etwa 1 Std können Präparate gewonnen werden, die sich von den normalen nur wenig unterscheiden. Die eingebrachte Füllmasse lag meist gering über der Norm.

Das 1943 von Stoll und Hofmann dargestellte sympathikolytische Gemisch dihydrierter Mutterkornalkaloide, Hydergin „Sandoz", bewirkt nach etwa 15 min eine geringe Dilatation der Hauptäste und eine mäßige Reduktion der kleineren Zweige (0,015 mg/kg). Die Veränderungen gegenüber der Norm sind nicht so ausgeprägt wie bei den zuerst abgehandelten Substanzen. Auf weiteres Studium dieses Pharmakons in diesem Zusammenhang wurde daher verzichtet.

Azetylcholin (5 mg/kg i.m.) bewirkte eine gute Füllbarkeit des Pfortaderbaumes. Die kleinen Gefäße sind sehr zahlreich dargestellt,

das Präparat wirkt geschlossen und buschig. Die großen Gefäße sind hingegen etwas verengt. Sehr auffällig ist auch die üppige retrograde Füllung der (hyperämischen) Darmgefäße. Der Komplex der Mesenterialvenen ist

Abb. 6. Das unter Azetylcholineinfluß gewonnene Korrosionspräparat (5 mg/kg) zeigt eine geringe Verschmälerung der Hauptäste, eine tiefe Füllung und gute Darstellung der feinsten Verzweigungen (Venae interlobulares). Die Mesenterialvenen zeigen eine gute retrograde Füllbarkeit, siehe linke Bildhälfte.

in Abb. 6 links zu erkennen, er übertrifft den am unbeeinflußten Tier entstehenden Ausguß der Darmvenen um ein Mehrfaches an Ausdehnung.

Im Gegensatz hierzu führt die Gabe von Atropin (0,025 mg/kg) zu einer beachtlichen Dilatation der Hauptstämme. Die kleinen Gefäße

Abb. 7. Die Atropinwirkung (2,5 γ/kg) bewirkt beträchtliche Dilatation der Hauptstämme und Reduktion der kleineren Gefäße. Links unten erkennt man ein Teilstück des Mesenterialvenenausgusses.

erscheinen normal weit oder etwas verengert (Abb. 7). Zwischen Azetylcholin und Atropin ist ein Antagonismus erkennbar.

Während die bisher besprochenen Körper nur jeweils auf eines der beiden vegetativen Teilsysteme (Sympathikus, Parasympathikus) fördernd oder hemmend wirkten, sind in letzter Zeit Stoffe aufgefunden

worden, deren kennzeichnende Eigenschaft in einer blockierenden Wirkung auf alle autonomen Schaltstellen besteht. Zu ihnen gehören die Tetraäthylammoniumsalze (Acheson und Moe, Acheson und Pereira 1946, Perry 1946 sowie Lyons 1947 u. a.) und schließlich auch ein von der Firma „Ciba" herausgebrachter Ganglienblocker, ein diquaternäres Dibromid[1]. Wegen seines ausgeprägten Einflusses auf die Splanchnikusgefäße sei zuerst auf die damit erhaltenen Versuchsergebnisse eingegangen. Wie schon an anderer Stelle beschrieben, senkt die Injektion von 25—50 mg/kg dieser Substanz den Portaldruck bei der Ratte erheblich. Auch der periphere Blutdruck wird nach eigenen Beobachtungen am Menschen im Ablauf von etwa 30—60 min deutlich herabgesetzt.

Abb. 8. Unter dem Einfluß des Ganglienblockers „Ciba" (25—50 mg/kg) füllen sich sämtliche Portaläste gut. Die retrograde Füllbarkeit der Mesenterialvenen erreicht einen hohen Grad. Die linke Hälfte der Abbildung zeigt den Mesenterialvenenausguß des unter Blockereinwirkung stehenden Versuchstieres. Links ganz außen ist zum Vergleich ein Darmvenenausguß angefügt, wie er normalerweise entsteht.

In Tierversuchen konnte nachgewiesen werden, daß das Zeitvolumen der Arteria mesenterica ansteigt (Mitteilung der Firma „Ciba"). Die Korrosionspräparate an der Ratte wurden nach subkutaner Gabe von 25—50 mg Blockersubstanz nach Ablauf von 15—30 min gewonnen. Das „Leberbäumchen" ist in allen Fällen gut ausgeprägt, eher etwas dichter und fülliger als das normale. Auffällig ist die ausgezeichnete retrograde Füllbarkeit der Mesenterialvenen, deren Ausguß ein dichtes Geflecht darstellt, obwohl die Injektionsrichtung in jedem Falle zum Leberhilus hin lag (Abb. 8). Dieser Befund hält die Beobachtung fest, daß es nach Blockergabe zu einer Hyperämie der enteralen Gefäße kommt. Die Senkung des peripheren Blutdruckes wird hierdurch mindestens teilweise ausgelöst.

[1] Pentamethyl-diäthyl-3-aza-pentan-1,5-diammonium-dibromid. Versuchspräparat Nr. 9295, Lit.: R. Meier und Mitarbeiter, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **71**, 70—72 (1949). Dieses Präparat ist nunmehr unter dem Namen PENDIOMID erhältlich.

Bei Untersuchungen mit Tetraäthylammoniumbromid (Teab[1]) zeigten sich ähnliche Veränderungen wie unter der Einwirkung des Ganglienblockers „Ciba", jedoch nicht in so ausgeprägtem Maße. Es ist von Interesse, daß W. A. Mackey den ganglienblockierenden Effekt von Teab mit dem Zustand nach paravertebraler Blockade verglichen hat.

Ähnlich den genannten Medikamenten wird auch Novocain zur Behandlung vegetativer Störungen verwendet (Asthma, Migräne usw.). Sein Einfluß auf die Lebergefäße der Ratte ist sehr markant. Sofort nach 1 cm³ 1‰iger Novocainlösung i.v. kontrahieren sich sowohl die kleineren portalen Äste (hell) als auch die Lebervenenästchen selbst (dunkel). Auf dem in Abb. 9 wiedergegebenen Präparat sind vorwiegend die Hauptstämme dargestellt. Die Rückwirkung auf den Pfortaderdruck ist aber bei Novocain nicht so ausgeprägt wie bei Histamin, dessen Konstriktionswirkung auf die Lebergefäße nach Thomas und Essex zu einem dramatischen Druckanstieg führt.

Abb. 9. Die Injektion (intravenös) von 1‰iger Novocainlösung ruft eine Kontraktion sowohl der kleineren portalen Äste (hell) als auch der Lebervenenäste (dunkel) hervor (Doppelinjektion).

Nach Untersuchungen von Emery und Griffith verkleinert die Applikation von Hypophysin das Lebervolumen. In Übereinstimmung mit dieser Feststellung sahen wir unter kräftigen Hypophysindosen (0,1 V.E./kg) eingeschränkte Füllbarkeit der kleinen Gefäße, während die Hauptstämme nur eine geringe Reduktion ihres Querschnittes erkennen ließen. Ebenso beeinträchtigte auch 1%ige Milchsäure (5—10 cm³ pro Kilogramm) in mäßigem Grade die Darstellungsmöglichkeit vor allem der Endverzweigungen. Korrosionspräparate, die von 36 Std hungernden und von verdauenden Tieren gewonnen wurden, zeigten keine sicheren Unterschiede.

Die Fähigkeit zu aktiven Querschnittsänderungen ist eine Grundeigenschaft der mittleren und kleineren Gefäße. Die Pfortader und ihre intrahepatalen Verzweigungen machen hierin keine Ausnahme. Es ist indessen bekannt, daß verschiedene Gefäßgebiete auf gleiche Reize unterschiedlich reagieren, wobei die Tätigkeitsphase des versorgten Gewebes oder Organs eine wichtige Rolle spielt. Mit Hilfe der angegebenen einfachen Methode gelingt es, den Funktionszustand der hepatischen Pfortaderäste in beliebigen Abständen nach medikamentöser oder anderweitiger Beeinflussung greifbar zu machen. Klare Antagonismen zeichnen sich innerhalb des adrenergischen und des cholinergischen Bereiches

[1] Gluthan-Chemie Würzburg.

ab, ohne daß jedoch eine Gegensätzlichkeit zwischen den beiden Systemen selbst in allen Teilen erkennbar wird. So bringt die Sympathikolyse eine andere Reaktionsform zustande als das Parasympathicometicum Azetylcholin, und der Nor-Ephedrineffekt unterscheidet sich erheblich von der Atropinwirkung. Bemerkenswert ist das differente Verhalten der größeren und der kleineren Gefäße (hauptsächlich der Venae interlobulares). Beide Gruppen zeigen nicht selten verschiedenes, ja sogar konträres Verhalten (Anfangswirkung des Sympathicolyticums „Ciba", Atropin, Azetylcholin), oder sie reagieren nach anfänglicher Divergenz schließlich doch gleichsinnig (Sympathicolyticum „Ciba"). Es ist sicher, daß von der Größe des Gefäßquerschnittes nicht ohne weiteres auf die Durchblutung geschlossen werden kann. Quantitative Durchströmungsmessung ist die Aufgabe anderer Untersuchungsmethoden, die aber ihrerseits nichts über das aktive Funktionieren der im Parenchym verborgenen Gefäße aussagen. Darin liegt die Berechtigung der vorgelegten Studie.

Zusammenfassung.

Eine am lebenden Tier in die Pfortader injizierte Azeton-Zelluloidlösung erlaubt die supravitale Darstellung der intrahepatischen Pfortaderäste im Korrosionspräparat. Das aktive Funktionieren dieses Gefäßgebietes unter medikamentösen und anderweitigen Einflüssen kann sichtbar gemacht werden. Vegetativ wirksame Pharmaka, insbesondere neuere, die sich zum Teil noch im klinischen Versuchsstadium befinden, wurden in ihrer Wirkung auf dieses Teilgebiet untersucht. Es ergab sich, daß das intrahepatische Pfortadersystem häufig nicht einheitlich reagiert, sondern in 2 funktionelle Einheiten zerfallen kann. Die intrahepatischen Portaläste beeinflussen auf Grund ihrer starken Reaktionsfähigkeit die Depotfunktion der Leber.

Literatur.

Acheson u. Moe: zit. nach G. W. Heyward. — Acheson u. Pereira: zit. nach G. W. Heyward. — Barcroft, J.: zit. nach Rein. — Du Mais: zit. nach Thomas u. Essex. — Emery, F. E., and F. R. Griffith: J. of Pharmacol. **42**, 233 (1931); ref. Ber. Physiol. **63**, 398 (1932). — Grab, W. S., Janssen u. H. Rein: Klin. Wschr. **1929**, 8. — Griffith jr., F. R., and F. E. Emery: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **27**, 673 (1930); ref. Ber. Physiol. **59**, 459 (1931). — Heyward, G. W.: The Lancet, 3. Jan. 1948. — Hürthle, K.: Hdbch. d. norm. u. path. Physiol. VII/2. Berlin: Springer 1927, S. 1488. — Janssen, S., W. Grab u. H. Rein: Klin. Wschr. **1931**, Nr. 27. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **164**, 530. — Lyons: zit. nach G. W. Heyward. — Mackey, W. A.: The Lancet, 31. Jan. 1948. — Miyake: Ber. Biol. **13**, 392 (1930). — Nickerson and Goddmann: Fed. Proc. **5** (1946). — J. of Pharmacol. **89** (1947). — Perry: zit. nach G. W. Heyward. — Rein, H.: Klin. Wschr. **1933**, Nr. 1. — Simmonds: Amer. J. Physiol. **65**, 512 (1923). — Spühler, Walther u. Brunner: Schweiz. med. Wschr. **1949**, 16, 357. — Thomas, D., und E. Essex: Amer. J. Psysiol., **158**, 303, (1949). — Tischendorf: Z. mikrosk.-anat. Forschg. **45**, 266, (1939).

Dr. Ludwig Demling. Würzburg, Med. Univ.-Poliklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 82—87 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor Professor Dr. Fritz Eichholtz).

Über die antikonvulsive Wirkung des Gynergens*.

Von
Willi Riechert.

(Eingegangen am 23. November 1950.)

Im Rahmen unserer Untersuchungen[1] über die Verhinderung des toxischen Lungenödems nach Gabe von Cardiazol, Coramin, Pantocain usw. durch Gynergen wurde die Beobachtung gemacht, daß durch diese pharmakologische Maßnahme bei einigen Krampfmitteln die Krämpfe unterdrückt werden konnten. In analoger Weise konnte vom Gynergen eine Wirkung gegen den Cocainkrampf an weißen Ratten festgestellt werden, wenn 5 mg/kg Tier eine halbe Stunde vor der Cocaininjektion appliziert wurden[2]. Während durch Azetylcholin die mittlere Krampfdosis von Cocain um 61%, beim Doryl um 57%, beim Mecholyl um 57% heraufgesetzt wurde, betrug der entsprechende Wirkungseffekt von Gynergen 37%.

Es scheint ein pharmakologischer Antagonismus zwischen den Krampfmitteln und den blutdrucksenkenden bzw. spasmolytisch wirkenden Pharmaka wie Azetylcholin, Doryl, Mecholyl, Priscol und Purinderivaten, sowie Pyramidon und auch Prominal und Luminal zu bestehen. Dieser Antagonismus bezieht sich nicht nur auf einen bestimmten Typ, sondern auf alle krampferregenden Pharmaka [2 u. 3a–3e]

Beim Cocain erhob sich die Frage, ob das Gynergen als Sympathikolytikum einen Antagonismus gegen die sympathikomimetische Wirkung des Cocains aufweist, oder aber ob sich die antikonvulsive Wirkung auch auf nicht sympathikomimetisch-wirkende Krampfmittel erstreckt. Sie wurde daher bei Krampfmitteln verschiedener Typen, nämlich Cocain, Novocain, Pantocain, Cardiazol, Coramin, Hexeton und Pikrotoxin untersucht.

Methode.

Die Versuche wurden an weißen Ratten durchgeführt. Die gewählten Krampfdosen der untersuchten Pharmaka sind aus den folgenden Angaben zu ersehen. Die Injektion der Krampfmittel erfolgte in eine Schwanzvene in der Zeit von 60 sec. Als Test diente der ausgebildete Krampfzustand. Die Krampfdauer wurde notiert. 2—4 Std vor der Gabe der Krampfmittel wurde Gynergen (5 mg/kg Tier) intramuskulär injiziert.

* Herrn Geheimrat Professor Dr. med. Eugen Rost zum 80. Geburtstag gewidmet.

Versuchsergebnisse.

a. Cocain.

14 Versuchstiere erhielten intravenös 20—25 mg/kg Cocain. Alle Tiere zeigten intensive Krämpfe. Die durchschnittliche Krampfdauer betrug 3 min 11 sec. 5 Tiere wurden mit Gynergen vorbehandelt, 4 Tiere mit DHE 45 (Dihydroergotamin). Die DHE-Dosis betrug 1 mg/kg. Nach dieser Vorbehandlung zeigten sich keine Krämpfe mehr.

b. Novocain.

Es wurden 50—60 mg/kg Novocain intravenös verabreicht. Von 6 behandelten Tieren gingen 5 Tiere nach ausgebildeten Krämpfen ein. Durch die Gynergenvorbehandlung konnten die Krämpfe bei 8 Tieren verhindert werden.

c. Pantocain.

Auch hier konnte der Krampfzustand durch Gynergenvorbehandlung bei einer Dosis von 5—8 mg/kg Pantocain im Vergleich zu 17 Kontrolltieren behoben werden.

d. Cardiazol.

Die durchschnittliche Krampfdauer bei 12 Versuchstieren betrug bei der Dosis 40—60 mg/kg 9 min 3 sec. 3 Versuchstiere gingen ein. Nach Gynergenvorbehandlung zeigten sich bei einigen von 10 Versuchstieren krampfartige Zuckungen. Ein ausgebildeter Krampf wurde nicht beobachtet.

e. Coramin.

Die Coraminkrämpfe (250—300 mg/kg) waren intensiv ausgebildet und von langer Dauer (Zeit: 20 min 47 sec). 6 von 12 Versuchstieren gingen ein. Nach Gynergenvorbehandlung (7 Tiere) zeigte sich bei einigen ein deutlicher Streckkrampf, dem sich keine klonischen Krämpfe anschlossen.

f. Hexeton.

Beim Hexeton waren die Krampfintensität und Dauer nach Gabe von Gynergen im Vergleich zu den Kontrollen (10 Tiere) schwach ausgebildet.

g. Pikrotoxin.

Die Krämpfe beim Pikrotoxin (6 Tiere, Dosis 2—2,5 mg/kg) traten erst nach 2—3 min nach der Injektion auf. Die durchschnittliche Dauer betrug 20 min 30 sec. Nach der Gynergengabe zeigten sich außer schwach angedeuteten Zuckungen keine Krämpfe (7 Versuchstiere).

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Für Cardiazol und Coramin, als Hauptvertreter der therapeutisch wichtigen Analeptika liegen besonders umfangreiche experimentelle Untersuchungen zur Klärung ihres Antagonismus zu den Narcoticis

vor[4]. Über die pharmakologische Grundlage dieses Antagonismus ist viel diskutiert worden. Im wesentlichen scheint der Grad dieser speziellen antagonistischen Wirkung davon abhängig zu sein, ob Krampfmittel und entgegengesetzt wirkendes Narkotikum bzw. Hypnotikum den gleichen pharmakologischen Angriffspunkt aufweisen. Eine Steigerung der Ausscheidung des Analeptikum durch das Gegenmittel oder eine gegenseitige chemische Entgiftung am Wirkungsort ist nicht die Ursache[5]. Durch entsprechende Untersuchungen wurde man auf die Bedeutung der Hirndurchblutung[6] und der Permeabilität[7] der Gefäße für diesen Entgiftungsantagonismus aufmerksam.

Das Cocain als Krampfmittel schien zur Klärung dieses Antagonismus besonders geeignet. Hier besteht nämlich die experimentelle Möglichkeit, die Cocainkrämpfe zu intensivieren bzw. abzuschwächen. Adrenalin, Corbasil und Ephedrin, Pharmaka also mit ausgeprägter blutdrucksteigernder Wirkung setzen die Kokainkrampfdosis herab[3b]. Ein ähnlicher Synergismus besteht auch zwischen dem Novocain und Adrenalin sowie Corbasil.

Spasmolytika wie Nitroglyzerin, Pyramidon, Papaverin, Luminal usw. machen die Versuchstiere weniger krampfempfindlich[3c, 3e]. Diese Abhängigkeit der Krampfempfindlichkeit von der Blutdruckhöhe wurde in systematischen Untersuchungen auch für die Cocainersatzmittel und die therapeutisch wichtigen Analeptika nachgewiesen[3e u. 3d]. Somit ergaben sich hieraus ganz neue Gesichtspunkte für die Klärung des Antagonismus zwischen den Analeptika und den antikonvulsiv wirkenden Arzneistoffen.

Ein ähnlicher Synergismus wie zwischen Cocain, Novocain und Adrenalin, Corbasil besteht zwischen dem Cocain und Morphin[8] und dem Strychnin und Morphin[9].

Durch die grundlegenden Untersuchungen von Eichholtz und Mitarbeitern hat sich gezeigt, daß bei allen Krampfmitteln das Luminal die stärkste antikonvulsive Wirkung aufweist und daß Purinderivate wie Coffein, Theophylin und Theobromin verglichen mit der Luminalwirkung zurückstehen.

Der Mechanismus der Gefäßspasmen, der für die Auslösung der Krämpfe mitbestimmend ist, scheint bei den untersuchten Krampfmitteln der gleiche zu sein, da bei allen die gleiche Reihe der antikonvulsiv wirkenden Stoffe zutrifft, und zwar in der Reihenfolge Luminal-Na > Prominal-Na > Veronal-Na > Bromide > Magnesiumsulfat.

Die von uns gewählten Krampfdosen der untersuchten Analeptika sind auf Grund entsprechender Literaturangaben und eigener experimenteller Erfahrungen als sicher wirkende Krampfdosen bei Ratten anzusehen. Bei einigen dieser Analeptika liegt die applizierte Dosis sogar höher, um ganz sicher zu sein, durch Gynergen eine in ihrer Wirkung stark ausgeprägte Krampfdosis zu verhindern. So ist es zu verstehen, daß bei dieser Dosierung ein Teil der Versuchstiere ohne Gynergenvorbehandlung einging.

Beim Coramin zeigten einige Tiere mit Gynergenvorbehandlung nur einen ausgebildeten tonischen Krampfzustand, der in wenigen Sekunden sich löste, während ohne Gynergenbehandlung die durchschnittliche Krampfdauer bis zu etwa 25 min betrug. Bei der gewählten Hexetondosis wiesen die mit Gynergen behandelten Tiere noch krampfartige Zuckungen auf, die aber gegenüber den voll ausgebildeten Hexetonkrämpfen ohne Gynergen von äußerst kurzer Dauer waren. Bei einigen Tieren trifft ähnliches beim Pikrotoxin zu.

Auch das Strychnin wurde mit einer Dosis von 0,75—1,5 mg/kg Ratte in diese Untersuchungen mit einbezogen. Wegen der äußerst geringen therapeutischen Breite waren die Versuchsergebnisse nicht eindeutig.

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen erstreckt sich also die antikonvulsive Wirkung des Gynergens nicht nur auf das Cocain[2], sondern auch auf das Coramin, Hexeton, Pikrotoxin, Novocain und Pantocain. Entscheidend ist nach unseren früheren Erfahrungen[1] für die voll ausgeprägte antikonvulsive Wirkung des Gynergens eine Verabreichung mindestens 2—4 Std. vor der Injektion des zu untersuchenden Krampfmittels.

Durch die systematische Austestierung der verschiedenen Spasmolytika in ihrer Wirkung gegen die verschiedenen Krampfmittel ist es möglich geworden, diese in verschiedene Gruppen einzuteilen[10]. Die Coramin-, Cardiazol-, Azoman-, Cocain-, Pikrotoxinkrämpfe gehen offenbar mit starken Gefäßspasmen einher, bei anderen wie z. B. Novocain zeigen sich nur schwache, beim Pantocain keine Gefäßspasmen. Nach der antikonvulsiven Wirkung der Spasmolytika zu urteilen, scheinen Gefäßspasmen einen wesentlichen Faktor für die Entstehung von Krämpfen zu bilden, und zwar müssen sich diese Gefäßspasmen am Gehirn abspielen, wo auch die spasmolytisch und antikonvulsiv wirkenden Pharmaka angreifen. Von dieser experimentellen Grundlage ausgehend findet die synergetische Wirkung des Cocains und des Adrenalins bezüglich der Krampfverstärkung eine sinnvolle Erklärung; ebenso die doch deutliche antikonvulsive Wirkung des Gynergens, da durch dieses die Adrenalinwirkung völlig aufgehoben oder sogar umgekehrt wird. Die Krampfmittel Cardiazol, Pikrotoxin zeigen auch schon bei unterschwelligen Krampfdosen eine allgemeine sympathische Reaktion[11], so daß sich hieraus auch die deutliche antikonvulsive Wirkung des Gynergens erklären würde. Nicht so eindeutig dagegen zu beurteilen ist die antikonvulsive Wirkung des Gynergens beim Coramin, Novocain und beim Pantocain, denen solche sympathische Reaktionen nicht zukommen. Dem Coramin sind sogar vorwiegend parasympathische Reaktionen eigen[12]. Beim Pantocain wirkt nach neuen Untersuchungen auch das Myanesin (20 mg/kg Ratte) antikonvulsiv. Die mittlere Krampfdosis wird um 56% erhöht[13].

Man muß sich jedoch die Frage vorlegen, ob nicht durch Gynergen und DHE 45 ein Anfluten der Analeptika zum pharmakologischen

Wirkungsort (Hirn) verzögert bzw. verhindert wird und sich dadurch die antikonvulsive Wirkung dieser Stoffe bei allen Analeptika erklären würde. Aus unseren früheren Untersuchungen über die Verhinderung des toxischen Lungenödems und des Lungenödems nach doppelseitiger Vagotomie durch Sympathikolytika (Gynergen) konnte der permeabilitätsfördernde Einfluß des Sympathikus im Bereich der Lungen wahrscheinlich gemacht werden[1]. In Analogie dazu könnte die Blockierung des Sympathikus im Gefäßsystem des Bereichs der Bluthirnschranke den Durchtritt der untersuchten Analeptika verhindern, wodurch eine Abschwächung der konvulsiven Wirkung und der letalen Wirkung solcher Mittel erreicht würde.

Der Sympathikus selbst würde danach für den Durchtritt von Pharmaka durch die Bluthirnschranke fördernd wirken. Man weiß nämlich auch auf Grund klinischer Erfahrungen[14], daß der Sympathikus wesentlich an der Bildung des postoperativen Hirnödems beteiligt ist, denn durch Blockade des Ganglion stellatum mit Novocain läßt sich das bedrohliche postoperative Hirnödem beherrschen.

Einen gültigen Beweis für die Annahme der Blockierung der Bluthirnschranke durch Sympathikolytika (Gynergen und DHE 45) sehen wir in unseren Versuchen mit dem Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), welches nach Gabe der sicher letalen Dosis (20—25 mg/kg Ratte) durch die Bluthirnschranke eintritt und dadurch eine tödlich verlaufende Atemlähmung der Versuchstiere hervorruft. Als Ausdruck des Eintritts in das Gehirn wird die Hypophyse durch Reduktion des TTC zu Formazankristallen rötlich angefärbt, da das TTC einen spezifischen Reduktionsindikator darstellt[15]. Genau so wie die sicher konvulsiv wirkende Dosis der untersuchten Analeptika und Lokalanästhetika läßt sich auch mit Gynergen und DHE die letale Wirkung des TTC an der Ratte verhüten. Alle mit Gynergen vorbehandelten Tiere zeigten weder einen Atemstillstand noch eine intensive Anfärbung der Hypophyse. Es liegt daher nahe, auch bei den Analeptika wie beim TTC durch Sympathikolytika eine Behinderung des Durchgangs der Bluthirnschranke für Pharmaka, die auf das Zentralnervensystem wirken, anzunehmen.

Die Untersuchungen mit dem TTC wurden mit freundlicher Unterstützung von Herrn Dr. Quadbeck (Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Direktor Professor R. Kuhn) durchgeführt, wofür ich meinen besonderen Dank aussprechen möchte. Einzelheiten werden an anderer Stelle berichtet werden.

Zusammenfassung.

1. Gynergen (5 mg/kg intramuskulär) zeigt beim Cocain, Novocain, Pantocain, Cardiazol, Coramin, Pikrotoxin und zum Teil beim Hexeton eine antikonvulsive Wirkung.

2. Beim Novocain kann die toxische Wirkung der sicher letal wirksamen Dosis eingeschränkt werden.

3. Der Mechanismus der antagonistischen Wirkung zwischen Analeptika und dem Gynergen wird diskutiert.

4. Die Wirkung der letalen Dosis von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) wird durch die vorherige Behandlung mit Gynergen und DHE 45 (Dihydroergotamin) ausgelöscht.

5. Es wird in Analogie zu den TTC-Versuchen bei den untersuchten Analeptika angenommen, daß durch Sympathikolytika die Bluthirnschranke blockiert wird.

Fräulein Magda Mees und Herrn W. Roschlau möchte ich für die Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen meinen Dank aussprechen.

Das Novocain und das Pantocain wurde mir freundlicherweise von der Firma Bayer, Leverkusen, das Cardiazol von der Firma Knoll A. G., Ludwigshafen, das Coramin von der Ciba A. G., Wehr/Baden. zur Verfügung gestellt. Besonderen Dank schulde ich der Firma Sandoz A. G., Nürnberg, für die großzügige Bereitstellung der Präparate Gynergen und DHE.

Literatur.

[1] Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [2] Seemann, J.: Dissertation, Heidelberg (1947). — [3] a) Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **173**, 687 (1933). — b) Keil, W., u. Rühling: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 415 (1935). — c) Eichholtz, F., u. Th. Kirsch: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 674 (1937). — d) Veigel, H.: Dissertation Pharm. Institut Heidelberg (1947). — e) Schau, G.: Dissertation Pharm. Institut Heidelberg (1948). — [4] Hildebrandt, F.: Hdbch. d. exp. Pharmak. Ergänzungswerk Bd. 5 (1937). Lit. über Cardiazol S. 160—167, Lit. über Coramin S. 133—139. — [5] Hildebrandt, F.: Hdbch. d. exp. Pharmak. Ergänzungswerk Bd. 5, S. 167 (1937). — [6] Fischer, M. H., u. H. Löwenbach: Klin. Wschr. **1934 II**, 1401. — Fischer, M. H.: Knolls Mitt. f. Ärzte, Jubil.-Ausgabe 187 (1936). — [8] Eichholtz, F., u. W. Krauth: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 667 (1937). — [9] Stender, O., u. C. Amsler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 195 (1931). — [10] Eichholtz, F., H. Veigel et J. Seemann: Arch. internat. Pharmacodynamie **77**, 127 (1948). — [11] Jarisch, A., u. H. Thoma: Klin. Wschr. **1940 I**, 76. — [12] Hahn, F., D. Müller u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 312 (1950). — [13] Reddig: Dissertation Pharm. Institut Heidelberg (1950). — [14] Persönliche Mitteilung von Herrn Prof. Tönnis, Bochum-Langendreer. — [15] Kuhn, R., u. D. Jerschel: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 949 (1941). — Quadbeck, G.: Z. physiol. Chem. **285**, 85 (1950).

Dr. Willi Riechert, Heidelberg, Hauptstr. 47/51, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 88—93 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt/M.

Über den Einfluß der calciumarmen RINGER-Lösung auf pharmakologische Reaktionen des isolierten Froschherzens*.

Von

JOSEF HERGOTT.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Januar 1951.)

Um die Rolle des Kalziums für die Leistung des isolierten Froschherzens zu prüfen, ging man bisher häufig so vor, daß das Kalzium in der RINGER-Lösung durch andere Stoffe ganz oder teilweise ersetzt wurde. RINGER u. RUTKEWITSCH[1] zeigten, daß Strontium an durch Kalziumentzug hypodynam gemachten Froschherzen den Kalziummangel fast vollständig zu beheben vermag. Barium vermag die Kalziumwirkung qualitativ ebenfalls zu ersetzen, wirkt aber erheblich stärker als dieses (LOEWI[2]), KONSCHEGG[3] u. PIETRKOWSKI[4] fanden, daß durch entsprechende Strophanthingaben der drohende Herzstillstand des kalziumfrei ernährten Froschherzens auf lange Zeit beseitigt, ja daß sogar durch Strophanthin das durch Kalziummangel stillstehende Herz nach 10 min langer Einwirkung für die Dauer von 30—40 min wieder zum Schlagen gebracht werden kann; dabei erholen sich die Vorhöfe weniger als der Ventrikel. HENDRYCH[5] zeigte, daß auch die Analeptika Koffein, Kardiazol und Koramin den Kalziummangel am isolierten Froschherzen zu kompensieren vermögen.

Zur Erklärung ihrer Befunde haben einige Autoren angenommen, daß die genannten, die Herzschlagfunktion verbessernden Stoffe ähnlich wie Kalzium, d. h. membrandichtend wirken.

Wenn die Vorstellung, daß diese Stoffe am kalziumarm oder kalziumfrei ernährten Froschherzen durch Abdichtung der Membran eine Besserung der Hubhöhe hervorrufen, richtig ist, müßte es auch möglich sein, durch beliebig andere Substanzen, die quellungswidrig oder abdichtend wirken, die normale Funktion des isolierten Herzens ganz oder teilweise wieder herzustellen.

Von dieser Vorstellung ausgehend prüften wir am kalziumarm ernährten Froschherzen Adrenalin, das einerseits nach GRADINESCU[6] und AKAMATSU[7] membrandichtend wirkt und anderseits am quergestreiften Muskel unter bestimmten Bedingungen eine Funktionssteigerung hervorruft. Da nach den Versuchen von HOFMANN[8], BARTSCH[9], HERGOTT[10], BROCK und DRUCKREY[11] sowie TAUBMANN und HIKIJI[12] auch Physostigmin, Prostigmin. Tannin und Alkohol zu einer Steigerung der Leistung des quergestreiften Muskels bei kalziumarmer Ernährung führen können,

* Anregung u. experim. Planung dieser Arbeit stammt von Prof. Dr. O. RIESSER †.

war daran zu denken, daß all diesen Stoffen ein gemeinsamer Reaktionsmechanismus zugrunde läge, der sie der Adrenalinwirkung auf den quergestreiften Muskel an die Seite stellte.

Methodik.

Die Versuche wurden am Herzen von Rana temporaria in der STRAUB'schen Anordnung in den Monaten Januar bis September ausgeführt. Als Nährlösung diente die in unserem Institut gebräuchliche RINGER-Lösung von der Zusammensetzung: NaCl 0,6%, $NaHCO_3$ 0,01%, KCl 0,0075% und $CaCl_2$ 0,02%. Die kalziumarme RINGER-Lösung enthielt statt 20 mg% nur 5 mg% $CaCl_2$; dadurch erzielten wir eine Verminderung der Hubhöhe von 60—70% bezogen auf die Ausschläge des mit normaler RINGER-Lösung ernährten Froschherzens.

Versuchsergebnisse.

1. Adrenalin.

In kalziumfreier RINGER-Lösung erholen sich sowohl die Vorhöfe als auch der Ventrikel auf Adrenalinzusatz hin in 10—15 min. Bei einer

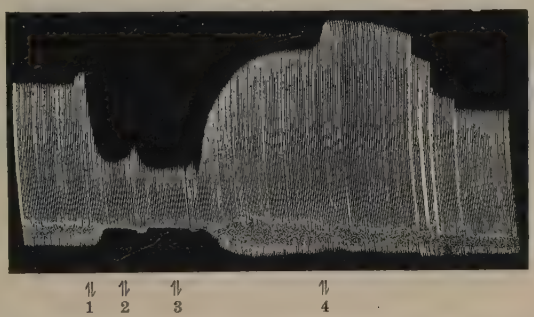


Abb. 1. 1. RINGER-Lösung mit 0,005% $CaCl_2$; 2. Austausch gegen gleiche Ca-arme RINGER-Lösung; 3. 0,005% Ca-RINGER + Adrenalin $1 \cdot 10^{-7}$; 4. Normal-RINGER. Durch Adrenalin wird nicht nur der Ca-Mangel ausgeglichen, sondern die Hubhöhe noch um 20% über die Norm gesteigert.

Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ Adrenalin wurde bereits 90% der normalen Hubhöhe wieder erreicht; höhere Konzentrationen führten zur Erreichung der vollen Hubhöhe (8 Versuche).

Noch eindrucksvoller waren die Versuchsergebnisse mit kalziumarmer RINGER-Lösung (Abb. 1). Adrenalin ($1 \cdot 10^{-8}$—$1 \cdot 10^{-5}$) ließ hierbei die Hubhöhe zu Werten ansteigen, die die Ausgangswerte um so mehr übertrafen, je höher die angewandte Adrenalinkonzentration war.

Auch die Geschwindigkeit, mit der der Anstieg der Hubhöhe erfolgte, war bei kalziumarmer RINGER-Lösung sehr viel größer als bei der kalziumfreien RINGER-Lösung.

Im Gegensatz zu dieser positiv inotropen Wirkung des Adrenalins am kalziumarm oder kalziumfrei ernährten Froschherzen wurde eine positiv chronotrope Wirkung des Adrenalins unter diesen Bedingungen stets vermißt.

2. Physostigmin.

Physostigmin in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-4}$ in Normal-Ringer-Lösung rief Kontraktionssteigerung, aber keine Frequenzverminderung hervor.

Am kalziumarm ernährten Froschherzen führt Physostigmin stets zu einer Steigerung der Hubhöhe um 15—20%. In diesen Versuchen wurde ausnahmsweise die Kalziumverminderung gestaffelt (10 mg%, 5 mg% und 2 mg%), um zu sehen, ob hier eine Relation zwischen dem Grad der Kalziumverminderung und der Wirkungssteigerung durch Physostigmin bestehe. Ein solcher Zusammenhang konnte indessen nicht ermittelt werden (Tab. 1).

Daß der Anstieg der Hubhöhe unter Physostigmin wirklich durch Physostigmin bedingt war und nicht etwa einen Wascheffekt darstellt, konnte auf folgende Weise gezeigt werden.

Tabelle 1. *Hubhöhe isolierter Froschherzen bei Speisung mit Normol-Ringer-Lösung, mit Ca-armer Ringer-Lösung und mit Ca-armer Ringer-Lösung bei gleichzeitigem Physostigminzusatz in mm. Hebelübertragung 1:10.*

Normal-Ringer-Lösung	Ringer-Lösung mit 0,002% $CaCl_2$	Ringer-Lösung mit 0,002% $CaCl_2$ + Physostigmin $1 \cdot 10^{-4}$	Normal-Ringer-Lösung	Ringer-Lösung mit 0,005% $CaCl_2$	Ringer-Lösung mit 0,005% $CaCl_2$ + Physostigmin $1 \cdot 10^{-4}$	Normal-Ringer-Lösung	Ringer-Lösung mit 0,01% $CaCl_2$	Ringer-Lösung mit 0,01% $CaCl_2$ + Physostigmin $1 \cdot 10^{-4}$
36	12	16	26	13	18	38	34	37
27	5	15	21	16	11	26	22	25
28	15	22	30	12	21	28	21	26
32	15	19	32	22	27	28	22	26
30	5	9	32	14	28	28,5	21,5	25
25	5	9	32	15	31	27	21	24
26	5	9	33	22	27	26	20,5	24
30	8	11	26	10	15	29	23	27
28	12,5	18	26	9	13	28	21,5	25,5
27	10,5	16	28	9	14	26	21	25
30	12	15	28	15	17	27	22,5	25
26,6	5,5	9	27	19	24	30	26	29
Durchschnittswerte in mm und %								
28,8	9,2	14	28,4	14,8	21,2	28,4	23	26,5
100%	31,9%	48,6%	100%	52,1%	74,6%	100%	80,9%	93,3%

Austausch der kalziumarmen Ringer-Lösung gegen eine kalziumarme Ringer-Lösung von derselben Kalziumkonzentration ließ die verminderte Hubhöhe unbeeinflußt. Nachträglicher Austausch der kalziumarmen Ringer-Lösung gegen eine solche mit Physostigminzusatz zeigte wieder den 15—20%igen Anstieg. Auch die Umkehr der Versuchsanordnung gelang, d. h. Austausch der normalen Ringer- gegen kalziumarme Ringer-Lösung mit Physostigmin brachte eine Erniedrigung der Hubhöhe; Austausch dieser Lösung gegen kalziumarme Ringer-Lösung ohne Physostigmin führt zu einer weiteren Senkung der Kontraktionsgröße.

Die mäßig positiv inotrope Physostigminwirkung konnte auch unter den Bedingungen des relativen Kalziummangels gezeigt werden. Wurde nämlich an Stelle des Kalziumentzuges der Kaliumgehalt auf 0,03% erhöht, trat ebenfalls eine Hubhöhensteigerung unter Physostigmin zutage.

3. Prostigmin.

Auch Prostigmin in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-4}$ (der gleichen wie Physostigmin) führt zu einem Anstieg der Hubhöhe, doch war der Anstieg der Hubhöhe unter Prostigmin bedeutend geringer und erfolgte langsamer. (Abb. 2) (10 Versuche).

Auffallend war die bei jedem Versuch beobachtete positiv chronotrope Wirkung des Prostigmins, die im Gegensatz zu einer fehlenden chronotropen Wirkung des Physostigmins in unseren Versuchen und

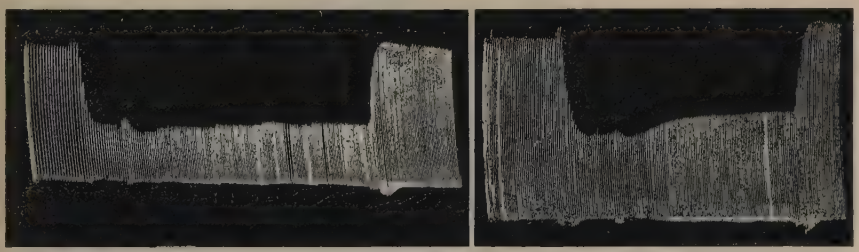


Abb. 2. a) 1. RINGER mit 0,005% $CaCl_2$; 2. Dieselbe Ca-arme RINGER + Prostigmin $1 \cdot 10^{-4}$; 3. Normal-RINGER. Prostigmin steigert die Hubhöhe nur wenig und langsam. b) 1. RINGER mit 0,005% $CaCl_2$; 2. 0,005% Ca-arme RINGER-Lösung + Physostigmin $1 \cdot 10^{-4}$; 3. Normal-RINGER. Physostigmin steigert die Hubhöhe schneller und höher (15—20%).

erst recht im Gegensatz zu der von anderen Autoren beobachteten negativ chronotropen Wirkung des Physostigmins stehen[13].

4. Tannin.

Tannin in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ führt am kalziumarm ernährten isolierten Froscherzen zu einer Steigerung der Hubhöhe um 10—20%. Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-4}$ bewirkten stets eine vorübergehende Tonuszunahme des Herzmuskels. (BROCK und DRUCKREY hatten einen nachhaltigen Ausgleich des Kalziummangels beobachtet).

5. Alkohol.

Konzentrationen von 0,01—0,05% Äthylalkohol führten sowohl am kalziumarm wie am normal ernährten Froscherzen stets zu einer Steigerung der Hubhöhe. Steigert man den Kalziumgehalt der RINGER-Lösung über die Norm hinaus auf 40 mg%, so zeigt sich auch bei den sonst fördernden Alkoholkonzentrationen eine Herzschädigung.

Bei lähmenden Alkoholkonzentrationen (1—5%) wurde der Einfluß eines von der Norm abweichenden Kalziumgehaltes nach beiden Seiten geprüft. Dabei zeigte sich, daß sowohl Kalziumverminderung als Kalziumerhöhung die durch dieselbe Alkoholkonzentration hervorgerufene lähmende Wirkung vertieften. Merkwürdigerweise liegt aber das Minimum der alkoholschädigenden Wirkung hierbei nicht bei der physiologischen Kalziumkonzentration von 0,02% sondern bei 0,03% (S. Abb. 3).

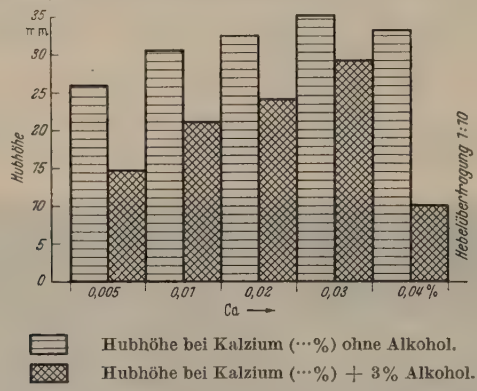


Abb. 3. Kalziumerhöhung vermag die Wirkung hoher Dosen Alkohol zum Teil zu kompensieren. Mittelwerte aus 3 Versuchen.

Diskussion.

Die im Vorstehenden untersuchten 5 Stoffe (Adrenalin, Physostigmin, Prostigmin, Tannin und Alkohol) haben die gemeinsame Eigenschaft gezeigt, in gewissen Konzentrationen die Hubhöhe des kalziumarm ernährten Froschherzens zu steigern. Zwischen den einzelnen Stoffen bestehen allerdings charakteristische Unterschiede in der Geschwindigkeit der Wirkung und in der Konzentration, die für die Hervorrufung der geschilderten Effekte notwendig sind. Adrenalin zeichnet sich wie immer durch die große Geschwindigkeit des Wirkungseintrittes und des Wirkungsabfalles aus. Besonders langsam wirkte Prostigmin. Die übrigen Stoffe nehmen eine Mittelstellung ein. Beim Alkohol war die gegensätzliche Wirkung niederer und höherer Konzentrationen auffällig.

Versucht man die funktionsbessernde Wirkung der untersuchten Stoffe gemeinsam auf dem Boden der Membrantheorien zu erklären, so müßten alle genannten Stoffe, da sie in mehr oder minder hohem Maße die Kalziumionen zu ersetzen vermögen, im Sinne einer Abdichtung der Membranen wirken.

Zusammenfassung.

1. Adrenalin $1 \cdot 10^{-5}$ bis $1 \cdot 10^{-8}$ kann am isolierten Froschherzen den Kalziummangel vollständig ausgleichen.

2. Physostigmin erhöht am normal ernährten isolierten Froschherzen die Hubhöhe nur wenig, Frequenzabnahme ist niemals zu beobachten. Der absolute und relative Kalziummangel kann zum Teil ersetzt werden.

3. Die Wirkung von Prostigmin ist verglichen mit der des Physostigmins gering und tritt sehr langsam ein; die Herzfrequenz wird gesteigert.

4. Tannin $1 \cdot 10^{-6}$ vermag den Kalziummangel nur teilweise zu ersetzen.

5. Niedere Alkoholkonzentrationen von 0,01—0,05% verbessern sowohl am normal als auch am kalziumarm ernährten Froschherzen die Hubhöhe. 0,1—0,5% Alkohol wirken schon lähmend. Alkoholkonzentrationen von 1—5% lähmen das normal, das kalziumarm und das überreichlich mit Kalzium ernährte Froschherz und zwar um so mehr, je stärker der Kalziumgehalt von der Konzentration von 0,03% $CaCl^2$ nach der einen oder anderen Seite abweicht.

Literatur.

[1] RINGER and RUTKEWITSCH: Practitioner **31**, 81 (1883), zit. nach HÖBER: Hdb. d. Pharmakol. Bd. III, S. 250. — [2] LOEWI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **82**, 131 (1918). — [3] KONSCHEGG: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **71**, 251 (1913). — [4] PIETRKOWSKI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **85**, 300 (1920). — [5] HENDRYCH: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **182**, 740 (1936). — [6] GRADINESCU: Pflügers Arch. **152**, 187 (1913). — [7] AKAMATSU: Okayama-Igakkai **44**, 2869 (1932). — [8] HOFMANN: Inaug.-Diss. Frankfurt/M. (1948). — [9] BARTSCH: Inaug.-Diss. Frankfurt/M. (1948). — [10] HERGOTT: Inaug.-Diss. Frankfurt/M. (1947). — [11] TAUBMANN u. HIKIJI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **161**, 621 (1931). — [12] BROCK u. DRUCKREY: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 185 (1938). — [13] HARNACK u. WITKOWSKI: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **5**, 422 (1876).

Dr. JOSEF HERGOTT, Pharmakologisches Institut der Universität Frankfurt/M.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 94—101 (1951).

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität Halle (Saale)
Direktor: Prof. M. Ratschow.

Über den Ponndorf-Impfstoff und seine Wirkungsweise.

Von
Rolf Emmrich, Hans Jürgen Keutel und Albrecht Morgenstern.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. November 1950.)

Der Ponndorf-Hautimpfstoff A, mehr noch der Ponndorf-Hautmischimpfstoff B haben in der Hand praktischer Ärzte große Verbreitung erfahren.

Wiederholt wurde über gute Erfolge berichtet (Ponndorf[1], Fehres[2], Petters[3] u. viele andere), ohne daß die Wirkungsweise dieser Impfstoffe, insbesondere auf die menschliche Haut eingehend untersucht worden ist. Wir überzeugten uns an einer großen Anzahl Kranker mit Asthma bronchiale und mit Polyarthritis von der Brauchbarkeit der Impfung mit Ponndorf B. Es gelang, überraschende Erfolge zu erzielen, — freilich nicht in allen Fällen. Es gibt Kranke, die überhaupt nicht ansprechen, andere verschlechtern sich sogar unter dieser Behandlung. Die Ungewißheit in der Vorhersage der Wirkung ist die Ursache dafür, daß die Ponndorf-Impfung vielfach Ablehnung erfuhr, in die Kliniken kaum Eingang fand.

Ponndorf-Impfstoff A enthält als Haupt-Wirkkomponente Tuberkulin, Ponndorf B (Rheumakutinimpfstoff B) enthält die autolysierten Eiweißkörper von Staphylo-, Strepto-, Pneumokokken und Influenzabazillen zusammen mit hautreaktivem Tuberkulin. In beiden Impfstoffen sind sämtliche Stoffe des Nährbodens mitenthalten, die Bakterien sind abgetötet. Die Impfstoffe werden bis zu ihrer handelsüblichen Konsistenz eingedampft. Es ergibt sich daraus, daß in den Impfstoffen enthalten sind:

1. Eiweißkörper, Polypeptide und weitere Stoffe der Nährlösung.
2. Abgetötete Bakterienleiber (Tuberkelbazillen, Staphylo-, Strepto-, Pneumokokken, Influenzabazillen).
3. Eiweißspaltprodukte der autolysierten Bakterienleiber.

Die Wirkung des Ponndorf-*Impfstoffes B auf die Haut.*

Da die Skarifizierung nach der Original-Ponndorf-Methode eine genaue Abmessung der Herdreaktion nicht zuläßt, wurde die Methode geändert und eine intrakutane Quaddel gesetzt. Wie beim Skarifizieren bleibt das papilläre System der Haut erhalten, die Quaddel enthält allen Impfstoff. Es wurde folgendermaßen vorgegangen: Der Inhalt einer Ponndorf-Kapillare (0,2 cm^3) wird mit phys. NaCl-Lösung 1:1 verdünnt. 0,05 cm^3 dieser Verdünnung werden mit der Tuberkulinspritze intrakutan injiziert. Es ist dies dann $^1/_8$ der Dosis, die bei der Skarifizierungsmethode verrieben wird. Lokalisationsstelle der Quaddel: Die Dorsalseite des Unterarmes in gleichem Abstand von der Ellenbeuge.

Unter Anwendung dieser Intrakutanmethode ergab sich jeweils örtlich eine Sofortreaktion mit Quaddelvergrößerung (initiales Ödem) und

einem roten Hof in der Umgebung. Die Röte ging innerhalb 2 Std weitgehend zurück und kehrte in dieser Form nicht wieder. Für die Ausbildung der Quaddel sind mehrere Faktoren mitbestimmend: Die Flüssigkeitsmenge, die Spritztechnik, die Spannung der Gewebe, die Resorptionsfähigkeit der Gewebe, und nicht zuletzt die Wirkung der injizierten Substanz, Faktoren, die auch für die Kochsalzquaddel, die Histaminquaddel u. ä. maßgebend sind. Da die Versuchsbedingungen bei der Ponndorf-Quaddel jeweils die gleichen waren, konnte die Quaddel einschließlich der Ödembildung und der umgebenden Röte mit der Schublehre genau gemessen werden.

Versuche.

1. Die Ponndorf-Reaktionen gingen regelmäßig an. Bei 20 Personen wurde die übliche Tuberkulinreaktion angestellt (Alttuberkulin). Verdünnung: 1 : 1000000, 1 : 100000 und 1 : 5000. 3 reagierten negativ, sie gaben jedoch mit Ponndorf B die oben beschriebenen Reaktionen. Daraus ist zu schließen, daß das Tuberkulin für die Entstehung der Ponndorf-Quaddel nicht allein ausschlaggebend sein kann.

2. Reaktionen an Kranken mit Hauttuberkulose. S. Abb. 1.

a) Lupus vulgaris (3 Fälle). Die Kurve des Quaddel-Ödems und der Rötung wich wenig von der Norm ab; nur die Nachreaktion war eine andere: Übelkeit, Temp. bis 38°. Die Lupus-Hautdefekte zeigten eine intensive Rötung. Lokal bildete sich am Orte der Quaddel ein Infiltrat, das mehrere Tage bestand und schmerzhaft war.

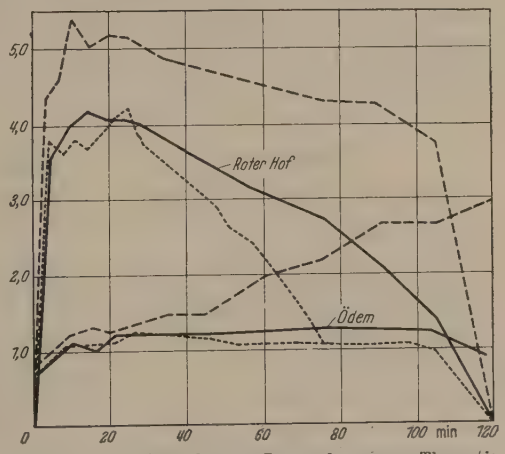


Abb. 1. ——— Normal; ····· Lup. vulg., - - - - - Tbc. cutis ind. (Durchschnitt von je 3 Fällen) Normal = Durchschnittskurve von 20 Gesunden. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Ödem bzw. Rötung in Zentimetern (1:2).

b) Tuberkulosis cutis indurativa (3 Fälle). Röntgenologisch keine aktiven Lungenprozesse. Die Kurve zeigt einen charakteristischen Verlauf: bei 45 min begann ein steter Anstieg des Initialödems, großer Rötungshof, der nach 120 min abklang. Es traten starke Allgemeinerscheinungen auf, Temperaturanstieg, Schüttelfrost und Abgeschlagenheit. Die Hauttuberkulose verschlechterte sich nicht, nach 4 Tagen waren sämtliche Erscheinungen geschwunden. Es zeigte sich hier eine ausgeprägte spezifische Wirkung des Tuberkulins*. Wegen der Allgemeinerscheinungen wurden Tbc-Kranke fortan von der Impfung ausgeschlossen.

* Die Fälle mit Hauttuberkulose entstammen der Univ. Hautklinik, Prof. Grüneberg.

3. Verhalten der Quaddel bei Ischämie (5 Fälle) und bei venöser Stauung (3 Fälle).

a) Es wurde am Oberarm eine Esmarchsche Blutleere angelegt. Die Abnahme der Stauung erfolgte nach 20 min. Anfangs bestand keine nennenswerte Reaktion, nach Abnahme der Blutleere bildete sich sofort ein starker roter Hof aus, das Ödem war wenig größer als der Norm entsprach. Erst nach 75 min bildete sich ein größeres Ödem heraus, das in ein Infiltrat überging.

b) Die venöse Stauung wurde ebenfalls für 20 min angelegt. Die Quaddel war größer als der Norm entsprach. Nach Abnahme der Stauung erfolgte eine weitere Vergrößerung der Quaddel. Der Rötungshof war sehr intensiv und schwand auch nach 2 Std nicht.

4. Örtliche Novocainblockade (3 Fälle). Setzte man am Orte der Applikationsstelle eine Novocainquaddel (3 cm³ einer 1%igen Lösung) und nach 5 min an der gleichen Stelle die Ponndorf-Quaddel, so ergab sich, daß das Ödem etwas größer war als der Norm entsprach, der Rötungshof aber erheblich kleiner war, er verfärbte sich nach 90 min livid.

5. Die leukocytäre Entzündung bei der Ponndorf-Quaddel (1 Fall). Der Quaddel-Inhalt wurde zu verschiedenen Zeiten auf seinen Zellgehalt hin untersucht. Die Eosinophilen schwankten zwischen 4 und 15%, sie waren teils höher, teils niedriger als die Prozentzahlen im Blutausstrich. Durchschnittlich waren die Lymphocyten vermehrt. Das Blutbild ergab zwischen 10 und 35 min nach Anlage der Quaddel im Ausstrich ein Absinken der Segmentkernigen und eine Zunahme der Lymphocyten.

Fraktionen des Ponndorf-*Impfstoffes B.*

Es wurden mehrere Fraktionen des Impfstoffes B hergestellt, die in der oben beschriebenen Weise ausgetestet wurden.

A. 2,5 cm³ Ponndorf B wurden mit 15 Teilen Äthanol versetzt, der Ansatz blieb 30 min im Eisschrank stehen. Das Filtrat engte man bei 40° im Vakuum auf etwa 1 cm³ ein, füllte mit destilliertem Wasser auf 2,5 cm³ und mit phys. NaCl-Lösung (analog der oben angegebenen Verdünnung 1:1) auf 5 cm³ auf. Dann wurde im Scheidetrichter mehrmals mit der 10fachen Menge Äther ausgeschüttelt. Die wässerige Lösung wurde nach Abdunsten des Ätherrestes zur Injektion benutzt.

Lösung A. Analyse: Gesamt-N des Ponndorf B: 1,90 g%, Eiweiß-N (Äthanolfällung): 1,02 g%, Rest-N: 0,88 g%.

B. 1 cm³ Ponndorf B wurde mit 1 cm³ destilliertem Wasser versetzt. Dialyse (Schleicher u. Schüll-Dialysierhülse) über 8 Std. Die anfallenden 4,2 cm³ Dialyse-Rückstand wurden bei 40° im Vakuum eingeengt und auf 2 cm³ gebracht. 0,4 cm³ zur N-Bestimmung. Zu 1,6 cm³ wurden 7,2 mg NaCl hinzugefügt, um vergleichbare Versuchsbedingungen zu erzielen.

Analyse: Gesamt-N des Ponndorf B: 2.28 g% (andere Charge als unter A), Dialyse-Rest, N-Gehalt: 1,42 g%. Durch Dialyse entfernt, N: 0,86 g%.

C. Wie unter A. Lösung A 15 min im siedenden Wasserbad gehalten: Lösung C.

D. 1 cm³ der Lösung C mit aktiver Tierkohle versetzt, filtriert, Lösung D.

Die Lösungen A, B, C, D wurden intrakutan injiziert. Abb. 2 gibt die Mittelwerte von 3 gesunden Versuchspersonen an, Abb. 3 den Kurvenverlauf bei einem Kranken mit schwerem Asthma bronchiale. Dargestellt ist die Größe der Quaddel mit initialem Ödem. Maßstab 1:6.

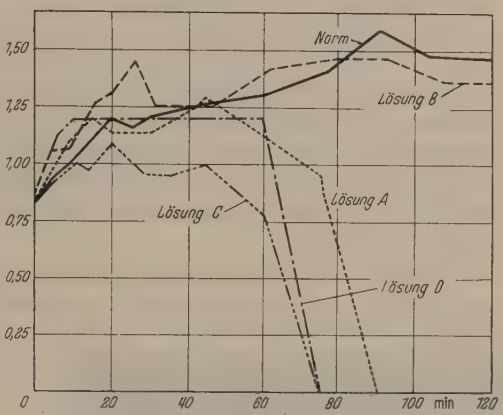


Abb. 2.

3 Gesunde. Die nicht dialysablen Substanzen des Ponndorf B zeigen etwa den gleichen Kurvenverlauf wie der gesamte Ponndorf B. Nach Alkoholfällung (Lösung A) ist die Quaddel in 90 min verschwunden. Hochmolekulare, mit Alkohol fällbare Stoffe, die das Anhalten des Ödems über 100 bis 120 min hinaus verursachen, sind ausgeschaltet. Erhitzen der Lösung A führt zu einer geringeren Quaddelgröße und ebenso wie die Kohleadsorption zu einer weiteren Verkürzung der Reaktionszeit.

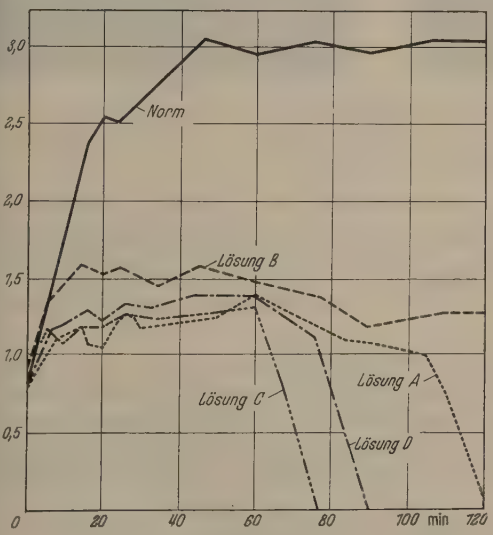


Abb. 3.

Fall K. Asthma bronchiale. Auffallend ist das große Initialödem, es hat etwa die doppelte Ausdehnung wie das Ödem der Gesunden. Der dialysierte Ponndorf B ergibt einen kaum halb so großes Ödem. Nach Alkoholfällung schwindet das Quaddelödem bei 120 min, weitere Verkürzung durch Erhitzen und Adsorption (Lösung C und D).

Es folgt aus diesen Versuchen: Die Reaktionslage des Organismus bestimmt die Größe des Initialödems (Fall K.). Durch Dialyse wird ein Teil jener Substanzen entfernt, welche bei besonderer Reaktionslage die Größe der Quaddel bedingen, nicht entfernt werden Stoffe, welche für ein zeitliches Fortbestehen des Ödems (über 90—120 min) verantwortlich

sind. Es sind dies hochmolekulare Stoffe, wahrscheinlich Proteine. Alkoholfällung beseitigt einen Großteil dieser Substanzen und führt zur Verkürzung der Ödemzeit.

Untersuchungen am überlebenden Meerschweinchendarm.

Aus den Versuchen mit Fraktionen des Ponndorf-Impfstoffes B konnte geschlossen werden, daß für das Zustandekommen der Reaktionen sowohl hochmolekulare als auch niedermolekulare Stoffe von Bedeutung sind. Der Versuch an einem Asthmatiker (Fall K.) ließ vermuten, daß es sich bei den niedermolekularen Stoffen um sogenannte „H-Substanzen" handeln könne.

Versuche am isolierten überlebenden Meerschweinchendarm. Tyrodebad (100 cm³), mit Sauerstoff durchperlt, konst. Temp.

Abb. 4.

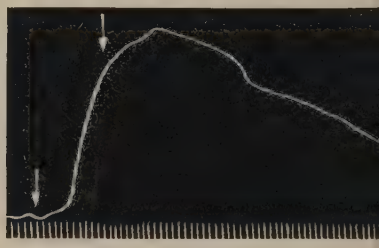


Abb. 5.

Abb. 4. Ponndorf A. Zeitschreibung $^1/_5$ sec. Kontraktion nach Zugabe von 0,2 cm³ Ponndorf A.
Abb. 5. Ponndorf B. Zeitschreibung $^1/_5$ sec. Kontraktion nach Zugabe von 0,1 cm³ Ponndorf B. Atropin (0,4 mg) hemmt.

Sowohl Ponndorf A als auch Ponndorf B ergeben in einer Dosis von 0,1 bis 0,2 cm³ eine Kontraktion des Darmes. Die Kontraktion wurde ebenfalls von Lösung A ausgelöst, die erforderliche Dosis entsprach den Dosen des Impfstoffes ohne Alkoholfällung. Atropin hemmt die Kontraktion, bzw. hebt sie auf.

In einem Testversuch mit Histamin (Imido) zeigte sich, daß in unserer Versuchsanordnung 0,2 mg Atropin die nach 0,1 mg Histamin auftretende Kontraktion nur gering hemmte, während 0,5 mg Atropin eine starke Hemmung ergab. Berechnet man aus dieser „Eichung" die hemmende Atropinwirkung, so folgt, daß 0,3 cm³ eiweißfreies Filtrat (Lösung A) etwa der Wirkung von 0,1 mg Histamin entsprechen.

Zur weiteren Prüfung auf Histaminwirkung wurde der „Edlbacher-Effekt"[4] herangezogen. Histidin, Arginin und Cystein hoben die kontraktionsauslösende Wirkung des Impfstoffes A und B auf, ebenso hoben sie die Wirkung der Lösung A auf, bzw. hemmten sie. Tyrosin und Methionin waren ohne Einfluß.

Lösung A, ½ Std unter Rückfluß erhitzt, behielt die Wirkung bei; auch nach Wasserdampfdestillation blieb die Wirkung erhalten.

Saure Hydrolyse (0,4 cm³ Ponndorf A und B-Lösung A mit 0,5 cm³ conc. HCl 3 Std im siedenden Wasserbad unter Rückfluß) zerstörte die wirksame Substanz nicht, wohl aber wurde sie durch alkalische Hydrolyse aufgehoben (0,4 cm³ Lösung A mit 0,5 cm³ n/1 NaOH im siedenden Wasserbad).

An Tierkohle ist die wirksame Substanz adsorbierbar. Nach Behandlung mit Aktivkohle fand man im Filtrat eine geringe oder keine Wirkung.

Die wirksame Substanz ist dialysabel, obwohl es nicht gelang, durch Dialyse aus den Impfstoffen A und B alle wirksame Substanz zu entfernen.

Gab man zu einer Brutschrankprobe (Lösung A) Histaminase (Torantil) hinzu, so verschwand die Wirksamkeit.

Die Extraktion der Lösung A mit heißem Chloroform ergab im Chloroformauszug keine Wirksamkeit.

Die angestellten Untersuchungen ließen am überlebenden Meerschweinchendarm einen Unterschied zwischen Ponndorf A und Ponndorf B nicht erkennen. Das nach Alkoholfällung erhaltene Filtrat beider Impfstoffe hatte die volle Wirksamkeit. Die chemischen Eigenschaften dieser Filtrate weisen darauf hin, daß sogenannte „H-Substanzen" vorliegen, wahrscheinlich handelt es sich in der Hauptsache um Histamin. Doch ist durchaus möglich, daß außer Histamin noch weitere biologisch wirksame Amine vorhanden sind.

Vergleich von Histamin und Ponndorf-*Lösung A.*

	Rückfluß 100°	n/1 HCl bei 100°	n/1 NaOH bei 100°	Alkohol	Äther	Chloroform	Edlbacher-Effekt	Darmkontraktion	Aufhebbar d. Atrop.
Histamin	+	+	—	l.	unl.	heiß l.	+	+	+
Ponndorf A und B (Lösung A)	+	+	—	l.	unl.	nicht l.	+	+	+

Besprechung der Ergebnisse.

In beiden Impfstoffen, Ponndorf A und dem Rheumakutin-Impfstoff Ponndorf B wird das Tuberkulin als Hauptträger der Wirkung angesehen. Für die Tuberkulin-Wirksamkeit des Ponndorf B sprechen die bei Tuberkulosen, z. B. Hauttuberkulosen auftretenden Herdreaktionen und die Allgemeinerscheinungen, wie auch wir sie fanden.

Die von uns durchgeführte Fraktionierung des Impfstoffes B schaltete durch Alkoholfällung hochmolekulare Proteine und alkoholunlösliche andere Substanzen aus, durch nachfolgende Ätherextraktion wurden ätherlösliche Lipoide entfernt. Die resultierende Fraktion (Lösung A)

zeigte im Hauttest insofern eine Änderung der Reaktion als das initiale Ödem früher abklang, während der rote (entzündlich-reaktive) Hof aber in gleicher Stärke wie bei Ponndorf B fortbestand.

Bei der Impfreaktion tritt zu einer reinen Flüssigkeitsquaddel[5] die Wirkung chemischer Substanzen hinzu: initiales Ödem. Bisher faßte man es als tuberkulo-toxisch bedingt auf. Nach unseren Untersuchungen sind an seiner Entstehung in besonderem Maße „H-Substanzen" beteiligt. Wie sehr dieses Ödem abhängt von der örtlichen Reaktionsfähigkeit der Haut, ihrer Durchblutung und der Innervation der feinen Gefäße, zeigen die verschiedenen Versuche mit arterieller und mit venöser Stauung und mit der Novocainblockade am Orte der Applikation. Aber auch die allgemeine Reaktionslage des Organismus ist für die Ausbildung des Ödems von Bedeutung, wie Fall K. (Asthma bronchiale) zeigt: Das starke Initialödem dieses Falles ist in erster Linie auf eine besondere Histaminempfindlichkeit zu beziehen, die der Kliniker kennt.

Dzsinisch[6] und Gotsch[7] machten darauf aufmerksam, daß hyperergische Entzündungen durch kleine Histamingaben günstig zu beeinflussen sind. Im Bienengift, das zur Behandlung rheumatischer Erkrankungen viel verwendet wird, haben Feldberg und Kellaway[8] Histamin aufgefunden. Die klinischen Wirkungen der Ponndorf-Impfungen beziehen wir auf Grund unserer vorliegenden Untersuchungen auf „H-Substanzen", in erster Linie auf Histamin, zugleich sind aber an der örtlichen und an der Allgemein-Reaktion das Tuberkulin und andere Antigene mitbeteiligt.

Zusammenfassung.

1. Intrakutane Impfung mit einer verdünnten Impfstoff-Lösung nach Ponndorf ist gekennzeichnet durch ein initiales Ödem und eine umgebende reaktive Zone, beide wurden gemessen.

Von 20 Personen reagierten 3 negativ auf Tuberkulin, aber auch diese zeigten die charakteristische Ponndorf-Reaktion.

Hauttuberkulosen reagierten nach Ponndorf B an dem Orte der tuberkulösen Erkrankung mit Impfquaddeln von abnormem Ausmaße.

Weiter wurde untersucht der Ablauf der Reaktion arterieller und venöser Stauung, ferner nach Novocaineinwirkung.

2. Nach Alkoholfällung und Ätherextraktion ergab der Impfstoff B kürzeren Ablauf der Reaktion, Erhitzen und Tierkohle verkürzten die Quaddelzeit noch weiter.

Nach Dialyse hatte das Initialödem kaum die Hälfte der vorherigen Ausdehnung. An der Reaktion sind also niedermolekulare Stoffe beteiligt.

3. Am überlebenden Meerschweinchendarm bewirkten Ponndorf-Impfstoff A und B eine histaminartige Reaktion. Diese Wirkung wurde aufgehoben durch Histaminase, hohe Dosen Atropin, sowie im Sinne des „Edlbacher-Effektes" durch Histidin, Arginin und Cystein gehemmt.

4. Die klinische Wirkung des Impfstoffes Ponndorf B ist zu verstehen als ein Effekt von „H-Substanzen", kombiniert mit der Einwirkung spezifischer Tuberkulinwirkstoffe und bestimmter Bakterienantigene.

Literatur.

[1] Ponndorf, W.: Münch. Med. Wschr. **1928**, 1453. — [2] Fehres, W.: Dtsch. med. Wschr. **1935**, 1480. — [3] Petters, A.: Med. Klin. **1931**, 97. — [4] Edlbacher, S. P. Juckner u. H. Baum: Z. physiol. Chem. **247**, 63 (1937). — Ackermann, D., u. W. Wasmuth: Z. physiol. Chem. **259**, 28 (1937). — [5] Köppel, M.: Klin. Wschr. **1942**, 829. — [6] Dzsinich, A.: Klin. Wschr. **1935**, 1612. — [7] Gotsch, K.: Z. klin. Med. **129**, 607 (1936). — [8] Feldberg u. Kellaway: zit. bei Dale: Brit. med. J. **1948**, 281.

Doz. Dr. Rolf Emmrich, II. Medizinische Klinik der Universität Halle/Saale.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 102—110 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg (Vorstand: Prof. Dr. phil. et med. W. Neumann) und aus der Universitäts-Nervenklinik Würzburg (Direktor: Prof. Dr. J. Zutt).

Zur Wirkung der Narkotika auf die Blutdruckregulation und zur Differenzierung zwischen Schlaf und Narkose (nach Untersuchungen beim Elektrokrampf).

Von

Wolfgang Schoetensack und Joseph Hann.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Januar 1951.)

Wiederholte, kurzdauernde Reizung des Gehirns mit Wechselstrom von 150—750 mA, die mit Bewußtlosigkeit und epileptiformen Anfällen einhergeht (Elektrokrampf = EK), vermag ebenso wie die mit massiven Insulin- und Kardiazoldosen geübte Schockbehandlung gewisse Psychosen therapeutisch zu beeinflussen.

Der durch den EK ausgelöste motorische Krampfablauf wurde von pharmakologischer Seite verschiedentlich als Maß zur Wertbestimmung zentral dämpfend oder erregend wirkender Pharmaka benutzt. Für den therapeutischen Wert des EK ist das motorische Krampfgeschehen anscheinend unwesentlich.

Bei Durchsicht der Literatur fällt auf, daß bei den durch den EK ausgelösten vegetativen Reaktionen einerseits Phänomene beschrieben werden, die für eine vagotrope Wirkung sprechen, andererseits wird verschiedentlich eine sympathikotrope Wirkung in den Vordergrund gestellt. An Hunden in Pernoktonnarkose beschreiben sowohl Hildebrandt, als auch Kreienberg und Ehrhard im Gefolge des EK Blutdrucksenkung und vermehrte Hirndurchblutung; sie schließen daraus auf eine parasympathische Erregung. Dagegen konnten Brecht und Kummer keine Vermehrung des freien Acetylcholins im Blut, Ammon und Ohm keine Erhöhung der Cholinesteraseaktivität im Serum von Patienten nach dem Elektrokrampf nachweisen. Auf Grund dieser Beobachtung kamen letztgenannte Autoren zum Schluß, daß der EK nicht mit einer Vagusreizung einhergehen könne. Diesen Vorstellungen scheinen Ergebnisse anderer Autoren zu entsprechen, die im Gefolge des EK eine sympathische Erregung beschreiben. So schildern Auerswald und Bornschein auf Grund von Ergebnissen, die sie mittels fortlaufender elektrischer Blutdruckregistrierung am Menschen erzielten, eine sympathische Erregung nach dem EK. Aus einer vermehrten fibrinolytischen Aktivität des Blutes nach dem EK beim Menschen schließt auch P. Berg auf einen erhöhten Sympathiekotonus. — Sowohl eine parasympathische als auch eine sympathische Wirkung betonen Kessler und Gellhorn auf Grund von Blutzuckerbestimmungen an nicht narkotisierten Ratten vor und nach Adrenalektomie im EK, wobei gewöhnlich die

sympathisch erregende Wirkung in den Vordergrund tritt. Während bei nicht narkotisierten Menschen alle Autoren übereinstimmend eine sympathikotrope Wirkung des EK beobachteten, wurde am narkotisierten Tier eine parasympathische Erregung gefunden. Die Vermutung, daß Narkotika den vegetativen Ablauf des EK beeinflussen, lag damit nahe.

Die Klärung, ob und wieweit Narkotika den Ablauf der vegetativen Reaktionen des EK zu beeinflussen vermögen, erschien uns in verschiedener Hinsicht von Interesse. Einmal als Hinweis zur Wirkungsweise der Narkotika, weiterhin als ein Beitrag zu der umstrittenen Frage, in welchem Umfang die Verwendung eines Narkotikums von den physiologischen Vorgängen abweichende Verhältnisse schaffen kann.

Überdies dürfte die Möglichkeit einer Wirkungsumkehr der vegetativen Reaktionen unter der Einwirkung von Narkotika auch eine direkte praktische Bedeutung für die Elektrokrampfbehandlung besitzen. Nach Murphy und Gellhorn führt die Reizung des sympathischen Anteils des Hypothalamus im Bereiche der Comissura posterior zu einer tiefgreifenden Funktionsänderung der Großhirnrinde; nun soll die Heilwirkung der sogenannten Schockmethoden bei Psychosen nach Gellhorn in erster Linie auf der Wiederherstellung eines herabgesetzten Tonus sympathischer Zentren, wie er ihn bei schizophrenen Patienten beobachtete, beruhen. Da in der Klinik neben Curare auch Narkotika, insbesondere kurzwirkende Barbiturate zur Vermeidung unliebsamer Zwischenfälle im Gefolge des motorischen Krampfgeschehens während des EK Verwendung finden, dürfte die Frage, inwieweit eine Aufhebung des sympathischen Reaktionsvermögens den Heilwert beeinträchtigt, von Bedeutung sein.

Zur Überprüfung dieser verschiedenen Fragen wählten wir die nachfolgend beschriebenen Blutdruckversuche.

Methodik.

Verwendet wurden 14 Katzen, 2 Hunde und 3 Kaninchen. Die Blutdruckregistrierung erfolgte mittels eines Quecksilbermanometers aus der Art. carotis oder Art. femoralis, die Atemregistrierung mit einer um den Thorax gelegten Manschette über eine Marey-Kapsel. Der EK wurde mit dem „Impulsor" der Atlaswerke Bremen ausgelöst. Als Elektroden dienten 2 an der Ohrwurzel subkutan gelegte Kanülen; Reizstärke 400 mA, Spannung 220 V Wechselstrom, Stromdurchlaufszeit 0,21 sec. Die intravenösen Injektionen erfolgten durch eine in einen Seitenast der Vena femoralis eingebundene Kanüle.

Ergebnisse.

A. Blutdrucksteigerung im EK am kuraresierten Tier.

Zur Ausschaltung des motorischen Krampfablaufs im EK und der dadurch möglichen Beeinflussung des Blutdrucks wurde bei einer ersten Tierserie (6 Katzen, 1 Hund, 1 Kaninchen) 1 E Curarin HAF pro Kilogramm Tier i. v. verabfolgt. Bei allen Tieren konnte danach, abgesehen von einer angedeuteten Bewegung des Kopfes, nach Setzen des EK keinerlei motorische Reaktion beobachtet werden, so daß ein durch erhöhte Muskelarbeit veränderter Blutdruckablauf ausgeschaltet werden konnte. Im Verlauf des Versuches wurde, nachdem der operative Eingriff mit

geringen Ätherdosen durchgeführt wurde, zur Konstanterhaltung der Muskelerschlaffung mittels einer Dauerinfusionsspritze Curare 0,1—0,2 E/min weiterhin i. v. infundiert und die Äthernarkose auf ein Minimum reduziert. In jedem Falle führte der EK bei den curaresierten Tieren zu einer Blutdrucksteigerung, die zwar nicht bei allen Tieren von gleichem Ausmaß war und in unseren Versuchen zwischen Werten schwankte, wie sie sich durch i. v. Adrenalingaben von 10—100 γ erzielen ließen (Abb. 1a und 1b). Kaninchen reagierten innerhalb dieses Bereiches schwächer als Katzen und Hunde. Wie die durch Adrenalininjektion erzeugte Blutdrucksteigerung, so ließ sich auch jene durch den EK hervorgerufene durch Yohimbin (6 mg/kg i. m.) aufheben (Abb. 1c).

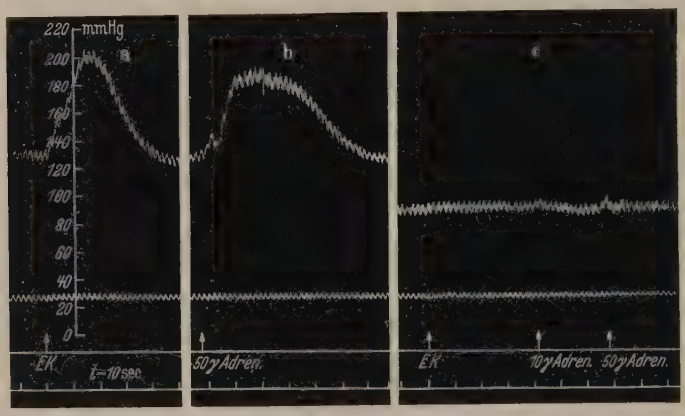


Abb. 1. Blutdrucksteigerung im Elektrokrampf (EK.) und deren Aufhebbarkeit durch Yohimbin am curaresierten Tier. — Katze: 2,2 kg — 1 E/kg Curarin intravenös; danach Dauerinfusion von 0,1—0,2 E Curarin/min. — Oberste Kurve Blutdruck — darunter Atmungsregistrierung. a) EK. (400 m A, 220 V, Wechselstrom; Stromdurchlaufzeit 0,21 sec). b) 50 γ Adrenalin intravenös. Zwischen b) und c) 6 mg/kg Yohimbin intramuskulär. c) EK, danach 10 γ und 50 γ Adrenalin intravenös.

Curare soll in höheren Konzentrationen intravenös gegeben oder in geringeren Konzentrationen direkt mit dem ZNS in Berührung gebracht, erregende Eigenschaften besitzen (Salama und Samson Wright). In den von uns verwendeten Dosen soll jedoch Curare das ZNS nach Grob, Lilienthal und Harvey nicht beeinflussen und eher blutdrucksenkend wirken. Demnach dürfte der am curaresierten Tier beschriebene Blutdruckverlauf nach dem EK weitgehend den unter physiologischen Bedingungen erzielbaren gleichkommen.

B. Blutdrucksenkung im EK durch Narkotika.

Während der EK am curaresierten Tier (Katze, Hund, Kaninchen) eine Blutdrucksteigerung zur Folge hatte, zeigte er am narkotisierten Tier ein völlig entgegengesetztes Verhalten. Unter der Einwirkung narkotischer Gaben von Evipan bzw. Eunarkon (Katze, Hund, Kaninchen) oder einer Kombination von 10 mg Eunarkon und 1 g Urethan je kg Katze, reagierten alle Versuchstiere (insgesamt 5 Katzen, 1 Hund, 1 Ka-

ninchen) mit einer deutlichen Blutdrucksenkung, wie sie in Abb. 2 (Katze) dargestellt ist. Diese Blutdrucksenkung entspricht ungefähr der Wirkung von 1 γ Acetylcholin. Abb. 3 (Katze) zeigt, daß nach Eserinisierung schon 0,1 γ Acetylcholin genügen, um eine gleichstarke Blutdrucksenkung herbeizuführen. Hierbei tritt nach Auslösung des EK eine

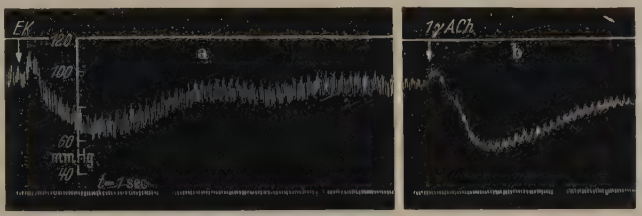


Abb. 2. Blutdrucksenkung im EK. beim narkotisierten Tier. — Katze: 1,9 kg — 40 mg/kg Evipan intravenös. a) EK. b) 1 γ Acetylcholin intravenös.

primäre etwa 10 sec anhaltende Vagusreizung mit hohen Amplituden und starker Blutdrucksenkung besonders deutlich hervor, deren Abklingen durch eine sekundäre, etwa 40 sec dauernde Blutdrucksenkung unterbrochen wird. Nach beidseitiger Vagotomie entfällt die durch den EK ausgelöste primäre vagale Herzwirkung, während die sekundäre Blutdrucksenkung unvermindert hervortritt. Atropin (3 mg/kg i. m.)

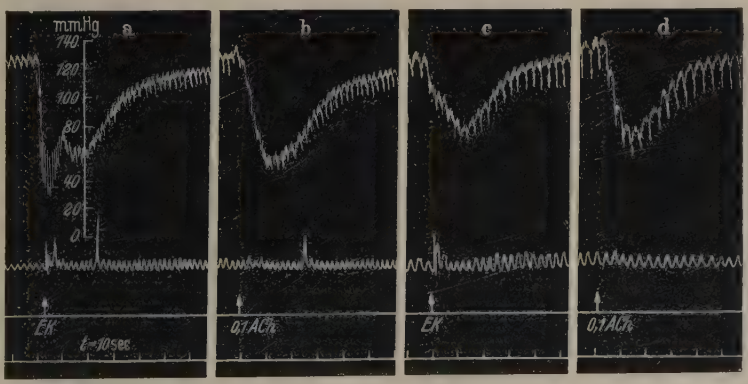


Abb. 3. Blutdruckverlauf im EK. am narkotisierten Tier nach Eserinisierung. — Katze: 40 mg/kg intravenös Evipan und 0,2 mg/kg Eserin. a) EK. b) 0,1 γ Acetylcholin intravenös. Zwischen b) und c) beidseitige Vagotomie. c) EK. d) 0,1 γ Acetylcholin intravenös.

und Scopolamin (25 mg/kg i. m.) heben die Blutdrucksenkung in allen Fällen auf. Die an mit Evipan narkotisierten Katzen ausgelöste Blutdrucksenkung läßt sich im gleichen Umfang am entsprechend narkotisierten Hund und Kaninchen erzielen. Urethan allein hebt bei der Katze die blutdrucksteigernde Wirkung des EK auf, führt aber nicht zu einer so ausgesprochenen Blutdrucksenkung, wie sie sich durch Evipan oder eine Kombination von Eunarkon und Urethan erzielen läßt.

C. Umkehr der blutdrucksteigernden Wirkung des EK durch Narkotika.

Wenn die durch Barbiturate oder Urethan narkotisierten Katzen, Hunde und Kaninchen auf den EK mit einer Blutdrucksenkung reagieren, so muß sich die am curaresierten Tier beschriebene Blutdrucksteigerung durch die genannten Narkotika aufheben lassen. Tatsächlich läßt sich die unter Curare durch den EK erzielbare Blutdrucksteigerung durch subnarkotische i. v. Gaben von Evipan (10 mg) deutlich herabsetzen. Auf narkotisch wirksame Dosen hin führt der EK zu einer Blutdrucksenkung, die sich durch Eserin verstärken läßt, wobei die am nicht-eserinisierten Tier angedeutete primäre Vagusreizung und eine nachfolgende anhaltende Vergrößerung der Amplitude besonders in Erscheinung tritt.

Besprechung.

Vorliegende Untersuchungen zeigen, daß der EK an curaresierten Tieren zu einer ausgeprägten Blutdrucksteigerung führt, die sich durch Urethan herabsetzen und durch Barbiturate in eine Blutdrucksenkung umwandeln läßt. Diese Befunde erscheinen in zweierlei Hinsicht bemerkenswert. Einmal bestätigen sie wieder, daß am narkotisierten Tier gewonnene Ergebnisse den physiologischen Vorgängen völlig entgegengesetzte Bilder liefern können. Zum anderen geben sie uns sowohl einen Hinweis auf die Wirkungsweise der verwendeten Narkotika, als auch die Möglichkeit, zentral vegetative Vorgänge pharmakologisch aufgliedern zu können.

Zu einer Dämpfung sympathikotroper Zentren führen auch Narkotika aus anderen chemischen Gruppen, wie wir in einer späteren Mitteilung noch ausführen werden.

Die Blutdrucksteigerung läßt sich durch eine Freisetzung von Adrenalin oder einem ihm nahe verwandten Stoff erklären; dafür spricht auch ihre Aufhebbarkeit durch Yohimbin. Bei der am narkotisierten Tier hervortretenden Blutdrucksenkung scheinen mehrere Faktoren beteiligt zu sein. Zwar wird nach Eserinisierung die Blutdrucksenkung durch den EK bedeutend verstärkt, aber im Verhältnis zu den vor der Eserinisierung verwendeten Acetylcholindosen genügen jetzt bedeutend geringere Mengen, um eine äquivalente Blutdrucksenkung zu erzielen. Diese Tatsache weist darauf hin, daß neben Acetylcholin möglicherweise noch andere parasympathikomimetisch wirkende Substanzen freigesetzt werden. Dabei ist bemerkenswert, daß die durch den EK am narkotisierten Tier erzielbare Blutdrucksenkung vor und nach Eseringaben durch Atropin und Scopolamin — wie oben dargestellt — aufhebbar ist. Daß im Gehirn eine Reihe von blutdrucksenkenden Substanzen vorhanden sein sollen, wurde mehrfach beschrieben (Cicardo und Stoppani).

Nach elektroenzephalographischen Untersuchungen von R. Jung an Katzen werden bei der von uns verwendeten EK-Methode alle Hirnanteile betroffen. Die beschriebenen Blutdruckwirkungen des EK sind demnach das Resultat von komplexen Vorgängen innerhalb des ZNS. Uns erscheint es interessant, daß sich diese durch Narkotika aufgliedern lassen. Wenn auch als sicher anzunehmen ist, daß diese durch Narkotika bedingten Veränderungen der Kreislaufregulation nach dem EK zentral bedingt sind, bleibt dennoch die Frage offen, wo die Wirkung im einzelnen zu suchen ist. Bekanntlich bleiben die durch periphere Schmerzreize ausgelösten Affektreaktionen sowohl beim Hund als auch bei der Katze nach Abtragung der Großhirnrinde erhalten. Unabhängig sowohl von der Großhirnrinde als auch von den rezeptorischen Thalamusarealen gegenügt allein das Erhaltensein der subthalamischen Zentren, um beim Hund „alle objektiven Symptome des Schmerzes" wie Blutdrucksteigerung, Sträuben der Haare, Pupillenerweiterung (Rein) auf einen entsprechenden Reiz hin zu erhalten. Narkose läßt sich demnach nicht allein als eine Lähmung der bewußten Sensorik und Motorik definieren, vielmehr schließt der Begriff der Narkose auch alle jenen unbewußten vegetativen Reaktionen aus, die sich am hypothalamischen Tier erzielen lassen.

Die von Ranson im Hypothalamus lokalisierten und von W. R. Hess näher untersuchten Koordinationsareale bilden ein die vegetativen und animalen Vorgänge steuerndes System, dessen Reizung bei der Katze zu Reaktionen führt, die ein eindrucksvolles Zusammenspiel der sensorischen und motorischen Leistungen mit den vegetativen Funktionen erkennen lassen. Einem im Bereich der Commissura posterior des Hyothalamus gelegenen sympathikotonen Areal, dessen Reizung zu Reaktionen führt, die auf eine Auseinandersetzung mit der Umwelt hinzielen, steht ein im Abschnitt der Commissura anterior gelegenes gegenüber, auf dessen Reizung eine vollständige Adynamie und Abwendung von der Umwelt folgt.

Funktionell nimmt ein im Bereich der Massa intermedia gelegenes Areal eine Mittelstellung ein, dessen elektrische Reizung dem physiologischen Schlafe ähnliche Symptome hervorruft. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß die Wirkung der von uns geprüften Narkotika mit einer Lähmung der im Bereich der Commissura posterior gelegenen sympathikotropen „ergotropen" (W. R. Hess) Zentren verbunden ist. Dies bestätigen Befunde sowohl von Leiter und Grinker als auch von Massermann, nach denen Narkotika der Barbitursäurereihe direkte Reizerfolge des Hypothalamus zu unterdrücken vermögen. Nach Brücke und Kaindl stehen die hypothalamischen Zentren in direkter Verbindung mit dem Sinus caroticus; fernerhin läßt sich nach diesen Autoren die durch Senkung der Wandspannung im Carotis-Sinus ausgelöste Blutdrucksteigerung durch isolierte hypothalamische Reize sympathisch beeinflussen. Nach Verkauteren sind diese pressorischen Reflexe durch Barbiturate unterdrückbar.

Für die Aktivität der Großhirnrinde besitzt nach Murphy und Gellhorn der sympathische Anteil des Hypothalamus eine nicht unerhebliche Bedeutung. Reizung dieses sympathikotropen Teiles des Hypothalamus vermag nach den genannten Autoren die sensorische und moto-

rische Leistungsfähigkeit der Großhirnrinde zu erhöhen. Die Wirkung soll nicht auf einer primären peripheren Freisetzung von Adrenalin beruhen, sondern an intracerebrale Bahnen gebunden sein. Diese Befunde stimmen mit den von W. R. Hess erhaltenen überein, nach dem sich im hinteren Hypothalamus Areale befinden, deren Reizung mit allen objektiven Zeichen einer erhöhten Initiative und vermehrten psychischen Erlebens verbunden ist. Nach unseren Versuchen lassen sich aber jene durch isolierte elektrische Reizung des Hypothalamus erzielbaren sympathikotropen Effekte durch die genannten Narkotika bei entsprechender Dosierung herabsetzen oder völlig aufheben. Weiterhin zeigte sich, daß subnarkotische i.v. Evipandosen von 10—20 mg je kg Katze den durch den EK ausgelösten Blutdruckanstieg zu vermindern vermögen und daß der normalerweise erhebliche Blutdruckanstieg im Gefolge des EK durch vollnarkotische Evipandosen völlig aufgehoben wird und im Gegenteil einer Blutdrucksenkung Platz macht.

Man könnte demnach annehmen, daß die genannten Narkotika die für die Leistung höherer Funktionsschichten mitverantwortlichen tiefer gelegenen Zentren derart beeinflussen, daß sie die zentralwärts verlaufenden sympathischen Impulse beeinträchtigen. Kleine Dosen können auf diese Weise zu einer Störung der höheren sensorischen und motorischen Funktionen führen. Erst größere narkotische Dosen lähmen auch die entwicklungsgeschichtlich älteren und weniger empfindlichen vegetativen Regulationen und führen damit zur Vollnarkose. Die durch die Narkotika bewirkte Ausschaltung des sympathischen Anteils derjenigen Zentren, die für die sympathisch-vegetativen und damit auch höheren funktionellen Leistungen verantwortlich sind, dürfte damit in erster Linie das Wesen der Narkose gegenüber dem Schlaf charakterisieren. Während des Schlafes tritt bekanntlich der Sympathikus — soweit nicht erforderlich — in den Hintergrund, bewahrt aber dabei seine momentane Mobilisationsfähigkeit, die dagegen in der Narkose unterdrückt bleibt.

Wenn, wie Gellhorn und Mitarbeiter annehmen, der therapeutische Wert des EK in der Wiederherstellung eines bei gewissen Psychosen verminderten Sympathikotonus beruht, so wäre nach unseren Untersuchungen die Verwendung der Narkotika in der Psychiatrie zur Unterdrückung des motorischen Anfallgeschehens kontraindiziert und es dürften zur Aufhebung der Krampfmotorik nur Pharmaka Verwendung finden, welche die sympathischen Reaktionen nicht behindern.

Die vorliegenden Befunde lassen sich dahingehend deuten, daß durch den EK sowohl das sympathische als auch das parasympathische System der zentralen Blutdruckregulierung erregt wird, daß aber durch Barbiturate und Urethan der sympathische Anteil unterdrückt wird. Auf diese Weise tritt der parasympathische Anteil des Reizeffektes deutlich in den Vordergrund.

Die von Frommel und Mitarbeitern erhobenen Befunde, daß subnarkotische Gaben von Barbituraten bei gleichzeitiger Verabfolgung von Pharmaka, wie Acetylcholin, Doryl und Pilocarpin zur Vollnarkose führen, lassen sich dahingehend erklären, daß durch Erhöhung des Vagotonus der schon in seiner Reaktionsfähigkeit eingeschränkte Sympathikus relativ noch mehr in den Hintergrund tritt. Die Hypothese, daß der Hypothalamus für das Zustandekommen der Narkose eine sehr wesentliche Rolle spielt, scheint nach unseren Erkenntnissen durchaus vertretbar.

In seinem Unvermögen, unter der Einwirkung entsprechender Gaben von Narkotika auf einen Reiz hin mit irgendwelchen sympathikotropen vegetativen Abwehrreaktionen zu antworten, gleicht das narkotisierte Tier einem „medullären Wesen" (Rein), dessen höchste Regulationsmechanismen die Atem- und Kreislaufzentren der Medulla darstellen. Narkotika vermögen ein Wesen sozusagen zu enthirnen und es in seinen Regulationen vornehmlich den medullären Zentren zu überantworten.

Der Ausfall der höheren, das fein differenzierte Zusammenspiel der Kreislaufregulationen kontrollierenden vegetativen Regulationsmechanismen erklärt auch Differenzen, die sich bei Kreislaufanalysen ergeben haben, die unter Narkose ausgeführt wurden. Daß unter der Einwirkung der Narkotika das differenzierte Zusammenspiel der Kreislaufregulationszentren derart gestört werden kann, daß gegenüber den physiologischen Vorgängen verzerrte Ergebnisse hervortreten, zeigen Befunde von Thauer und Wezler über Kreislaufwirkungen des Ephedrins unter der Einwirkung von Evipan und Pernokton. Zwar scheint der unbelastete Kreislauf auf den ersten Blick durch Barbiturate und Urethan wenig beeinflußt zu werden. So beschreibt Kochmann in seinem Übersichtsreferat die Wirkung der von uns verwendeten Barbiturate wie die von Urethan auf den unbelasteten Kreislauf als geringfügig. Weese gibt für Evipan-Gaben von 75 mg/kg Hund lediglich eine Blutdrucksenkung von 20 bis 30 mm Hg über 1—2 Std an. Nach Untersuchungen von Thauer und Wezler verbirgt sich aber hinter dieser scheinbar geringfügigen Blutdrucksenkung eine nicht unerhebliche Störung des Kreislaufgeschehens in dem Sinne, daß Schlag- und Minutenvolumen unter die Hälfte des Ausgangswertes absinken, während der periphere Widerstand gleichzeitig stark erhöht ist. Diese Veränderungen wichtiger Kreislauffaktoren sind nach den Verfassern nicht allein für Barbiturate kennzeichnend, sondern sollen bei entsprechender Dosierung chemisch so verschieden gebauter Narkotika wie Pernokton, Evipan, Chloralose, Morphin gleichfalls sichtbar sein. Zu analogen Ergebnissen kamen Thauer hinsichtlich der zentralen Wärmeregulation und Schleinzer und Antal für die Regulation des Gaswechsels.

Zusammenfassung.

Bei Katze, Hund und Kaninchen führt der Elektrokrampf unter Curare zu einer Blutdrucksteigerung, wie sie sich durch i. v. In-

jektion von 10—100 γ Adrenalin erzeugen läßt. Sie ist durch Yohimbin aufhebbar.

Wird der Elektrokrampf in Evipannarkose durchgeführt, so kommt es statt dessen zu einer Blutdrucksenkung, die sich durch Eserin verstärken und durch Atropin aufheben läßt.

Die am curaresierten Tier durch den Elektrokrampf ausgelöste Erhöhung des Blutdruckes läßt sich durch steigende Gaben von Evipan herabsetzen und bei vollnarkotisch wirkenden Evipandosen in eine Blutdrucksenkung umkehren.

Auch Urethannarkose hebt die pressorische Wirkung des Elektrokrampfes auf.

Die Narkose ist gegenüber dem Schlaf durch Lähmung der sympathikotropen Zentren charakterisiert.

Literatur.

[1] Ammon, R., u. G. Ohm: Klin. Wschr. **27**, 138 (1949). — [2] Auerswald, W., u. H. Bornschein: Wien. Z. Nervenheilk. **2**, 259 (1949). — [3] Berg, P.: Klin. Wschr. **28**, 507 (1950). — [4] Brecht, B., u. H. Kummer: Klin. Wschr. **22**, 741 (1943). — [5] Brücke, F., u. F. Kaindl: Arch. internat. Pharmacodynamie **81**, 159 (1950). — [6] Frommel, E., A. Bischler, P. Gold, M. Fuore u. F. Valette: Helvet. physiol. Acta **5**, 64; 78 (1947). — [7] Gellhorn, E.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **59**, 155 (1945); **64**, 375 (1947). — [8] Gellhorn, E., and M. Kessler: Arch. of Neur. **49**, 808 (1943). — [9] Gellhorn, E., and H. J. Minatoya: J. Neurophysiol. **6**, 161 (1943). — [10] Gellhorn, E., and H. Safford: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **68**, 74 (1948). — [11] Grob, D., J. L. Lilienthal and A. M. Harvey: Bull. Hopkins Hosp. **80**, 299 (1947). — [12] Hess, W. R.: Die funktionelle Organisation des vegetativen Nervensystems, Basel: Benno Schwabe u. Co 1948. — [13] Hildebrandt, F.: Klin. Wschr. **21**, 947 (1942). — [14] Kessler, M., and E. Gellhorn: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **46**, 64 (1941). — [15] Kochmann, M.: Handb. exp. Pharmakol. **1**, 416 (1928); Erg.-Bd. **2**, 127 (1936). — [16] Kreienberg, W., u. H. Ehrhardt: Nervenarzt **1947**, 154. — [17] Leiter, L., u. R. R. Grinker: Arch. Neurol. u. Psych. **54**, 31 (1934). — [18] Massermann, J. H.: Arch. Neurol. u. Psych. **57**, 617 (1937). — [19] Murphy, J. P., and E. Gellhorn: J. Neurophysiol. **8**, 341; 431 (1945). — [20] Salama, S., and Samson Wright: Brit. J. Pharmacol. **5**, 49 (1950). — [21] Schleinzer, R., u. J. Antal: Pflügers Arch. **245**, 361 (1941). — [22] Thauer, R.: Pflügers Arch. **246**, 372 (1942). — [23] Thauer, R., u. K. Wezler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 84 (1942). — [24] Vercauteren, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie **42**, 339 (1932). — [25] Weese, H.: Dtsch. med. Wschr. **58**, 1205 (1932).

Dr. Wolfgang Schoetensack, Würzburg, Pharmakolog. Institut, Koellikerstr. 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 111—113 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Ausscheidung des Bernsteinsäureesters des Pentaerythrit-trijodhydrins bei der Ratte.

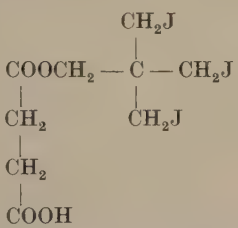
Von

H. Kewitz.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Januar 1951.)

Das dreifach jodierte Derivat (Formel 1) des Pentaerythrits, wie es von der Firma Riedel - de Haën in Berlin-Britz hergestellt wurde, erfüllt mit einem Jodgehalt von 67,28% eine wichtige Voraussetzung zur Verwendung als Röntgenkontrastmittel. Da die Tauglichkeit jedoch außerdem von der Toxizität und den Auscheidungsverhältnissen abhängt, schien es angebracht beides zu prüfen.



Formel 1. *Saurer Bernsteinsäureester des Pentaerythrit-trijodhydrins.*

Methodik.

Als Versuchstiere dienten ausgewachsene 150—200 g schwere, weiße Ratten, die sich während der Versuche einzeln in Stoffwechselkäfigen befanden. Urin und Kot wurden in 24-Std-Portionen gesammelt. Die Nahrung bestand aus Fleisch und Vegetabilien. Das Trinkwasser befand sich in Syphongefäßen, damit die Harnkonzentration durch verschüttetes Wasser nicht verändert werden konnte.

Gallensaft wurde mittels Choledochussonde gewonnen, wie es O. Krayer[3] angegeben hat.

Die schlecht wasserlösliche Substanz (Mol-Gew. 565,95) bekamen die Tiere in Form von Pillen oder in Rapsöl gelöst durch die Magensonde.

Jodanalysen wurden zum Teil nach der Methode von Fellenberg[1], zum Teil nach der von Th. Leipert[4] durchgeführt. Die mit beiden Verfahren gewonnenen Ergebnisse stimmten gut überein. Zur Trennung von anorganisch und organisch gebundenem Jod im Urin diente die von Fellenberg angegebene Vorschrift.

Sulfat wurde als Bariumsulfat gravimetrisch bestimmt, die Fällung bei p_H 5—6 in der Siedehitze vorgenommen. Zur Gesamtsulfatbestimmung im Harn wurde vor der Fällung 1 Std mit etwa 10% Kaliumhydroxyd hydrolisiert. Die Differenz zwischen freiem und Gesamtsulfat wurde als gebundenes Sulfat angesehen.

Ergebnisse.

Der saure Bernsteinsäureester des Pentaerythrit-trijodhydrins sowie sein Natriumsalz sind in Wasser sehr schlecht löslich, gut dagegen in organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Aceton und Öl. Quantitative Löslichkeitsbestimmungen wurden nicht vorgenommen.

Zusatz von Nitrit vermag in saurer Lösung kein freies Jod abzuspalten.

Toxizität: Ratten vertrugen bis zu 1 g/kg oral ohne auffällige Veränderungen des Allgemeinzustandes. Nach höheren Dosen wurde der Gang unsicher und torkelig. Bei 3 g/kg hielt diese „Trunkenheit" etwa 36—48 Std an, die Tiere zeigten aber keine besondere Schlafrigkeit. Höhere, eventuell tödliche Dosen wurden nicht gegeben.

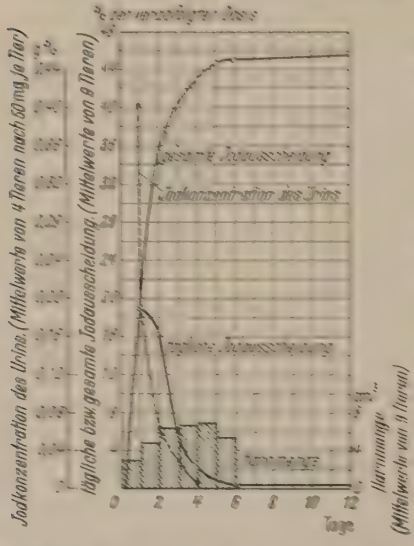


Abb. 1: Jodausscheidung im Ratten-Harn nach Eingabe von Pentaerythrit-trijodhydrin

Ausscheidung: Die Ausscheidung der Substanz erfolgte vorwiegend durch die Nieren und zu einem kleinen Teil durch die Leber.

Im Harn wurden innerhalb von 5–7 Tagen bei 9 verschiedenen Tieren 40—50% der verabfolgten Jodmenge von 6,7—33,5 mg je Ratte wiedergefunden. Im Kot erschienen bei drei Tieren im Laufe der ersten 3—4 Tage 10—15%. Danach waren noch mehrere Tage Spuren von Jod, d. h. unter 10 γ, in Harn und Fäces nachweisbar.

Die Jodkonzentration des Urins betrug am ersten Tag 0,02—0,5%, am zweiten 0,01—0,1% und fiel dann auf noch geringere Werte ab. Einmal fand ich in einem sehr konzentrierten Harn einen Jodgehalt von 0,7% nach der Gabe von 50 mg Pentaerythrit-trijodhydrin. In Abb. 1 ist die Ausscheidung mit dem Urin nach Durchschnittswerten kurvenmäßig dargestellt.

Das im Urin ausgeschiedene Jod lag zu etwa einem Drittel anorganisch, zu zweidrittel organisch gebunden vor. Glukuronsäure war auch nach Verseifung weder mit den üblichen Reduktionsproben noch mit dem Polarimeter nachweisbar. Dagegen war die Ausscheidung gebundenen Sulfats in den ersten 24 Std nach Aufnahme von 40 mg Pentaerythrit-trijodhydrin von 220 γ pro cm³ (= 10 γ) auf 280 γ pro cm³ gesteigert.

Der Wert von 220 γ pro cm² ist als Mittelwert aus den Ausscheidungsmengen desselben Tieres an den drei vorausgegangenen Tagen ermittelt worden. Somit ist es wahrscheinlich, daß das Pentaerythrit-trijodhydrin in der Hauptsache mit Schwefelsäure gepaart ausgeschieden wird.

Lebergalle wurde bei drei Tieren in der 3. und 4. Std nach oraler Eingabe des Mittels gesammelt. Von der applizierten Jodmenge fanden sich darin 1·4—2% in einer Konzentration von 0·005—0·01%.

Besprechung.

Trotz des hohen Jodgehalts der untersuchten Substanz ist sie als Röntgenkontrastmittel ungeeignet. Zwar erfolgt die Ausscheidung überwiegend durch die Niere, erstreckt sich aber über mehrere Tage und erreicht infolgedessen nicht die zur Darstellung des Nierenbeckens erforderliche Jodkonzentration. Diese muß nach G. Hecht[2] wenigstens 1%, besser 2% betragen. In den oben geschilderten Versuchen wurde unter besonders günstigen Bedingungen jedoch nur ein Höchstwert von 0·7% festgestellt.

Zur Darstellung der Gallenblase ist das Präparat schon wegen seiner geringen Elimination durch die Leber unvorteilhaft. Außerdem blieben die gefundenen Jodkonzentrationen hinter den von G. Hecht als Minimalwert angegebenen 0·5% um mehr als eine Zehnerpotenz zurück. Trotzdem Blasengalle zehnmal konzentrierter ist als Lebergalle wurde ihr Jodgehalt nicht zur Schattenbildung ausreichen.

Daneben hat das Mittel den großen Nachteil, relativ lange zu einem erheblichen Anteil im Körper gespeichert zu werden. Insgesamt werden mit Urin und Kot in den ersten 5—6 Tagen höchstens 65% ausgeschieden. Anderen Kontrastmitteln ist die Substanz auch deshalb unterlegen, weil das darin enthaltene Jod im Urin teilweise in ionaler Form erscheint.

Zusammenfassung.

Der Bernsteinsäureester des Pentaerythrit-trijodhydrins ist wenig giftig. Er wird langsam im Harn und in geringerem Umfange in der Galle ausgeschieden. Als Kontrastmittel kommt er nicht in Frage.

Literatur.

[1] Feinblatt: Biochem. Z. 139, 371 (1923). — [2] Hecht, G.: Handb. d. exper. Pharmakol. Erg.-Bd. VIII, 111. Berlin: Springer 1939. — [3] Krayer, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 128, 117 (1928). — [4] Lippert, Th.: Biochem. Z. 261, 36 (1933).

Einen Teil der Jodanalysen nach Lippert hat die Chemisch-Biologische Assistentin, Fräulein Hilde-Marie Schaffner ausgeführt. Dafür sei ihr an dieser Stelle bestens gedankt.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 114—120 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster i. W.
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. A. Loeser).

Über die anticonvulsive Wirkung mehrwertiger Alkohole.

Von
Gerhard Bornmann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 20. Januar 1951.)

Einleitung.

Auf der Suche nach Stoffen, die geeignet sind, Krämpfe zu dämpfen bzw. zu unterdrücken, fanden Hanzlik und Mitarbeiter[5] im Isopropylalkohol eine Substanz, die einen deutlichen Effekt auf die Reizschwelle des Gehirns von Ratten gegenüber dem elektrischen Strom als krampferregendem Mittel besaß. Obwohl die Reizschwelle recht zuverlässig heraufgesetzt wird, und obwohl die hierzu erforderlichen Dosen nicht im Bereich besonderer akuter Gefährlichkeit liegen, erscheint Hanzlik eine praktische Anwendung des Isopropylalkohols als Anticonvulsivum wegen seiner — bisher im einzelnen noch nicht geklärten — Toxizität bei wiederholter Zufuhr bedenklich.

Es lag hiernach nahe, unter den bekanntermaßen wenig giftigen Alkoholen, insbesondere den mehrwertigen, nach anticonvulsiv wirkenden zu suchen und sie auf den Grad ihrer Wirksamkeit zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene 2- und 3-wertige Alkohole im Vergleich zum Isopropylalkohol auf ihre Fähigkeit, die Wirkung von Cardiazol (Pentamethylentetrazol) — Krämpfe bzw. unter Krämpfen erfolgender Tod — zu verhindern, untersucht. In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Änderung der Reizschwelle des Rattenhirns für den durch den Schädel geleiteten elektrischen Strom nach Einwirkung von 1,3-Butandiol geprüft.

I. Unterdrückung des Cardiazoleffektes durch mehrwertige Alkohole.

Nachdem in Vorversuchen übereinstimmend mit früheren Untersuchungen[3] festgestellt war, daß die tödliche Wirkung von Cardiazol stets mit schweren, epileptiformen Krämpfen einhergeht, wurde als Kriterium für die anticonvulsive Wirksamkeit der untersuchten Substanzen ihre Fähigkeit, den Eintritt des Todes nach hohen Cardiazolgaben zu verhindern, gewählt.

Methodik: In einer Mischspritze oder auch getrennt wurden 10—30 g schweren Mäusen beiderlei Geschlechts 0,08—0,1 g Cardiazol/kg Körpergewicht zusammen mit 1,25 bis 5,0 cm^3 — im Normfall 2,5 cm^3 — der zu prüfenden Alkohole je kg

Körpergewicht subkutan injiziert. Die Wirksamkeit der Alkohole wurde abgeleitet aus der Zahl der 24 Std post injectionem noch lebenden Tiere. Die Versuche wurden von Oktober 1949 bis Juni 1950 an mehr als 1600 Mäusen ausgeführt.

Hinsichtlich ihrer Schutzwirkung gegenüber einer an der Hälfte der Tiere (0,08 g/kg Körpergewicht) oder an nahezu allen Mäusen (0,1 g/kg Körpergewicht) zu erwartenden tödlichen Cardiazolwirkung wurden geprüft: Aethandiol, 1,2-Propandiol, 1,3-Butandiol, 1, 2, 3-Propantriol, 1, 2, 4-Butantriol. Die angewandte Dosis der Prüfsubstanzen betrug jeweils 2,5 cm³ je kg Körpergewicht (als 25%ige wäßrige Lösung). Diese Mengen wurden von den Mäusen gut vertragen; insbesondere fehlten narkotische Erscheinungen.

Dabei wurde die Versuchslösung (Mischspritze) stets in folgender Weise hergestellt: Handelslösung Cardiazol* 0,8 cm³; Prüfsubstanz 2,5 cm³; Aqua dest. ad 10,0 cm³.

Als Kontrolle diente eine Tiergruppe, der eine Lösung: Handelslösung Cardiazol* 0,8 cm³, Aqua dest. ad 10,0 cm³ appliziert wurde. Außerdem kam 0,9 und 1,0 cm³ der Handelslösung Cardiazol zur Anwendung; die Werte sind im obigen Rezept jeweils einzusetzen. Sämtliche Lösungen wurden subkutan injiziert, und zwar jeweils 0,1 cm³/10 g Maus.

Tabelle 1. *Schutzwirkung mehrwertiger Alkohole gegenüber tödlichen Gaben von Cardiazol bei Mäusen (Mischinjektion: 2,5 cm³ Prüfsubstanz und 0,08 g Cardiazol je kg Körpergewicht subkutan).*

Prüfsubstanz	Tierzahl	
	eingesetzt	überlebend
Aethandiol	30	26
1,2-Propandiol	30	27
1,3-Butandiol	60	60
1, 2, 3-Propantriol	60	40
1, 2, 4-Butantriol	30	22
Kontrolle: Aqua dest.	72	45

Tabelle 2. *Schutzwirkung mehrwertiger Alkohole gegenüber tödlichen Gaben von Cardiazol bei Mäusen (Mischinjektion: 2,5 cm³ Prüfsubstanz und 0,09 g Cardiazol je kg Körpergewicht subkutan).*

Prüfsubstanz	Tierzahl	
	eingesetzt	überlebend
Aethandiol	30	28
1,2-Propandiol	30	24
1, 3-Butandiol	30	30
1, 2, 3-Propantriol	30	18
1, 2, 4-Butantriol	30	19
Kontrolle: Aqua dest.	30	9

* 1,0 cm³ des Handelspräparates Cardiazol = 0,1 g Pentamethylentetrazol (= Cardiazol).

Aus den in Tab. 1 und 2 zusammengestellten Versuchsergebnissen geht als wichtigste Tatsache hervor, daß die geprüften mehrwertigen Alkohole eine mehr oder minder deutliche Schutzwirkung gegenüber hohen Dosen Cardiazol besitzen. Das 1,3-Butandiol verleiht vollständigen Schutz; in der Wirkung am nächsten kommen Aethandiol und Propandiol, zwischen deren Effekt kein verwertbarer Unterschied besteht. Hingegen weisen die dreiwertigen Alkohole 1, 2, 3-Propantriol und 1, 2, 4-Butantriol nur eine schwache und unsichere Schutzwirkung auf. Hervorzuheben ist, daß der Schutzeffekt der mehrwertigen Alkohole — der vollständige von 1,3-Butandiol oder der schwächere von 1, 2, 4-Propantriol — auch dann beobachtet wurde, wenn die Injektion ihrer Lösungen an einer anderen Körperstelle erfolgt als die der Cardiazollösung. Daraus ist zu folgern, daß es sich bei der Schutzwirkung von 1, 3-Butandiol um eine echte, der Substanz eigene Wirkung handelt. Ein ähnlicher Effekt hätte vorgetäuscht werden können durch Zerstörung des Cardiazol in der Mischung oder auch durch Änderung der Geschwindigkeit, mit der das Cardiazol aus der Mischung resorbiert wird.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die „Cardiazol-Schutzwirkung" des 1,3-Butandiol mit der des eingangs bereits erwähnten, von Hanzlik als anticonvulsiv wirksam erkannten Isopropylalkohols verglichen. Für ihn liegen derartige Versuche, ähnlich wie sie von Berger[1] zur Prüfung anticonvulsiv wirksamer Glykoläther durchgeführt wurden, meines Wissens bisher noch nicht vor. Die in diesen Versuchen bei Anwendung hoher Cardiazolmengen (0,1 g pro kg Körpergewicht) gewonnenen Ergebnisse sind in Tab. 3 wiedergegeben.

Tabelle 3. *Schutzwirkung von 1,3-Butandiol im Vergleich zu der von Isopropylalkohol gegenüber tödlichen Gaben von Cardiazol bei Mäusen (Mischinjektion: 2,5 cm³ Prüfsubstanz und 0,1 g Cardiazol je kg Körpergewicht).*

Prüfsubstanz	Tierzahl	
	eingesetzt	überlebend
1, 3-Butandiol	60	55
Isopropylalkohol	60	60
Aqua dest.	60	13

Wie aus Tab. 3 ersichtlich, reicht die Schutzwirkung des 1,3-Butandiol hier nicht aus, um den tödlichen Cardiazolkrampf vollständig zu unterdrücken, während Isopropylalkohol vollständigen Schutz gewährt. Bei besonders resistenten Tierstämmen kann eine derartige Wirkung jedoch auch durch 1,3-Butandiol erzielt werden. Sie, d. h. vollständiger Schutz, wird stets erreicht, wenn die Menge des 1,3-Butandiol verdoppelt wird. Wird der Anteil des Isopropylalkohols aber in der Injektionsmischung auf die Hälfte verringert, so wird auch sein Schutz unvollständig. Diese Befunde müssen deshalb hervorgehoben werden, weil zwischen

der Toxizität von 1,3-Butandiol und Isopropylalkohol erhebliche Unterschiede bestehen.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß auch hier die getrennte Injektion der Prüfsubstanz und der Cardiazollösung, zumindest wenn die Prüfsubstanz vor der Cardiazollösung injiziert wird, nichts an dem mit der Mischinjektion erzielten Ergebnis ändert. Wird hingegen die Lösung von Isopropylalkohol oder 1,3-Butandiol erst nach der Cardiazollösung unter die Haut gespritzt, so ist der 1,3-Butandiol-Schutzeffekt schwächer als der von Isopropylalkohol. Vielleicht ist diese verminderte Schutzwirkung darauf zu beziehen, daß 1,3-Butandiol langsamer als Isopropylalkohol aus dem subkutanen Gewebe resorbiert wird und so erst zu spät im Organismus zur Wirkung gelangt, um den Eintritt der Cardiazolwirkung verhüten zu können.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen läßt sich als Ergebnis ableiten, daß von den untersuchten mehrwertigen Alkoholen 1,3-Butandiol den wirksamsten Schutz gegenüber tödlichen Cardiazolwirkungen bietet. Bei Anwendung gleicher Dosen ist es dem einwertigen Isopropylalkohol nur wenig unterlegen; wird die Wirkung doppelt so großer Mengen 1,3-Butandiol (5,0 bzw. 2,5 cm^3 je kg Körpergewicht) mit der von Isopropylalkohol (2,5 bzw. 1,25 cm^3 je kg Körpergewicht) verglichen, so sind keine Unterschiede mehr zu erkennen.

II. Änderung der Krampfschwelle durch 1,3-Butandiol (Elektrokrampf).

Zur Beantwortung der Frage, ob 1,3-Butandiol ebenso wie Isopropylalkohol die Reizschwelle des Gehirns gegenüber der Einwirkung des durch den Schädel geleiteten elektrischen Stroms bei Ratten verändert, wurden Versuche in ähnlicher Anordnung wie der von Tainter und Mitarbeiter[6] angegebenen durchgeführt.

Methodik: An nicht narkotisierten, seit 24 Std hungernden Ratten (♂, Gewicht etwa 200 g) wurde durch Steigerung der Stromstärke — beginnend mit 6 mA, jede 5. min Erhöhung der Stromstärke um 2 mA, Stromfluß je 2 sec — ein ein-

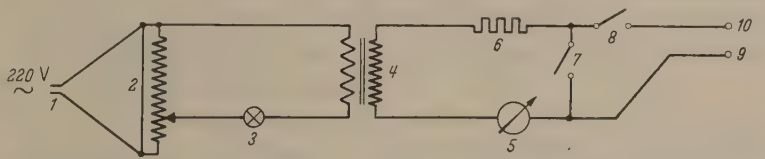


Abb. 1. Schaltskizze für die Apparatur zur Erzeugung des Elektrokrampfes. *1* Netzanschluß (220 V, Wechselstrom, 50 Hz), *2* Schiebewiderstand (12000 Ω, 0,3 A), *3* Schaltuhr, *4* Transformator, *5* Milliamperemeter, *6* Widerstand 26000 Ω, *7* und *8* Unterbrecher, *9* und *10* Elektroden.

deutig tonisch-klonischer Krampf erzeugt. Als solcher wurde ein Krampf gewertet, bei dem die Ratten über das Ende des Stromflusses hinaus Vorder- und Hinterbeine starr nach hinten streckten und anschließend einige ungeordnete klonische Bewegungen ausführten. Die zur Erzeugung derartiger Erscheinungen ausreichende Stromstärke (in mA) wurde als „Reizschwelle" bezeichnet.

Die Reizapparatur entsprach weitgehend der von Tainter und Mitarbeiter beschriebenen; sie unterschied sich nur durch den höheren Vorschaltwiderstand.

welcher Abweichungen von eingestellter zu tatsächlich fließender Stromstärke auf ganz geringe und zu vernachlässigende Werte herabdrückt. Einzelheiten ergeben sich aus der beigefügten Schaltskizze.

Als Elektroden diente ein nach Art einer Kandare angelegtes Bißstück und ein mit einem in 10%iger Kochsalzlösung eingetauchten Schwammgummi versehenes Joch, das auf den Nacken der Tiere aufgesetzt wurde. Bißstück und Joch waren durch seitlich angebrachte Gummizüge miteinander verbunden und wurden so in ihrer Lage gehalten. Die Ratte selbst wurde durch eine breite, aus festem Stoff gefertigte Manschette, die zwischen Vorder- und Hinterbeinen den Körper fest umschloß, gehalten.

Da diese Versuche nur mit einer beschränkten Zahl von Ratten durchgeführt wurden, erwies es sich als zweckmäßig, die zu prüfenden Substanzen in großen Dosen zu verabfolgen, um Veränderungen zu erzielen, die außerhalb des Bereiches der recht erheblichen individuellen Schwankungen liegen. Nachdem in vier, in Abständen von 6—7 Tagen ausgeführten Vorversuchen die jedem Tier eigene Reizschwelle festgestellt worden war, wurde geprüft, ob diese Schwelle durch 1,3-Butandiol (0,5 bzw. 1,0 cm³ je 100 g Körpergewicht) ebenso wie durch Isopropylalkohol (0,5 cm³ je 100 g Körpergewicht) geändert wird. Als Kontrollsubstanz diente Wasser (1,0 cm³ je 100 g Körpergewicht). Alle Substanzen wurden mit der Schlundsonde zugeführt. Die Bestimmung der Reizschwelle erfolgte jeweils 1 Std nach der Fütterung.

Tabelle 4. *Reizschwellen des Rattenhirns gegenüber dem elektrischen Strom vor und nach Verabfolgung von 1,3-Butandiol, Isopropylalkohol oder Wasser. Die für den Hauptversuch angegebenen Werte wurden 1 Std nach Verabfolgung der Prüfsubstanzen (Schlundsonde) ermittelt.*

Tier-Nr.	Reizschwelle in mA					
	Vorversuch				Hauptversuch	
	I	II	III	IV		
1	20	18	24	18	> 45	1,3-Butandiol 1,0 cm³/100 g
2	14	16	16	14	> 44	
3	12	12	16	22	34	
4	22	22	18	14	40	
5	22	24	28	20	34	1,3-Butandiol 0,5 cm³/100 g
6	12	14	14	16	26	
7	24	16	18	18	20	
8	14	14	22	16	42	
9	14	16	22	14	24	Isopropylalkohol 0,5 cm³/100 g
10	10	14	16	14	38	
11	22	20	24	28	42	
12	16	16	18	22	30	
13	20	16	18	18	20	Aqua font. 1,0 cm³/100 g
14	14	14	14	14	20	
15	16	12	14	20	26	
16	16	10	18	12	14	

Während 0,5 cm³ je 100 g Körpergewicht 1,3-Butandiol symptomlos von den Tieren vertragen wurden, rief 1,0 cm³ je 100 g Körpergewicht leichte narkotische

Erscheinungen hervor, die Ratten wurden stumpf und träge. Bei Einwirkung von 0,5 cm³ Isopropylalkohol je 100 g Körpergewicht zeigten die Tiere motorische Unsicherheit und später ebenfalls narkoseähnliche Symptome.

Auf Grund der vorstehenden Ergebnisse, die sich bei Wiederholung des Versuches mit anderen Ratten bestätigen ließen, kann die Angabe von Hanzlik und Mitarbeitern, nach der Isopropylalkohol die Reizschwelle von Ratten für den durch den Schädel geleiteten Strom steigert, bestätigt werden. Die Steigerung betrug im angeführten Versuch fast 90%. Gleiche Mengen 1,3-Butandiol (0,5 cm³/100 g Körpergewicht) setzten die Reizschwellen ebenfalls herauf, wenn auch in geringerem Ausmaß (um etwa 50%), doppelte Dosen steigerten sie hingegen wesentlich mehr (um etwa 130%). Dabei waren einzelne Meßwerte nicht mehr genau festzulegen, da die Stromstärke der verwandten Apparatur nicht ausreichte. Auffallend war, daß 1,3-Butandiol und Isopropylalkohol dem Krampf die elementare Wucht nahmen, die ihm vor Verabfolgung dieser Substanzen eigen war und die auch nach Zufuhr von Wasser unverändert beobachtet wurde. Entsprechend erwies sich die Reizschwelle nach Verabfolgung von Wasser als nahezu unverändert; die Abweichungen lagen im Bereich der individuellen Schwankungen.

Nach 24 Std waren 3 von 4 Tieren, denen Isopropylalkohol verabfolgt worden war, tot. Demgegenüber wurde 1,3-Butandiol in der kleinen Dosis immer gut, in der großen Dosis nur einmal nicht vertragen. Die Bestimmung der Reizschwelle ergab bei den überlebenden Tieren zu diesem Zeitpunkt normale Werte.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei subkutaner Injektion der mehrwertigen Alkohole Aethandiol, 1,2-Propandiol, 1,3-Butandiol, 1, 2, 3-Propantriol und 1, 2, 4-Butantriol erwies sich das 1,3-Butandiol den übrigen geprüften Alkoholen hinsichtlich der Fähigkeit, tödliche Cardiazolkrämpfe zu verhüten, deutlich überlegen. Verglichen mit dem Effekt des bekanntermaßen anticonvulsiv wirkenden Isopropylalkohols war es bei subkutaner Anwendung gleicher Mengen etwas schwächer wirksam.

Ein ganz ähnliches Ergebnis fand sich, wenn als Maß der anticonvulsiven Wirksamkeit die Steigerung der Reizschwelle im Elektrokrampf-Versuch gewählt wurde. Auch hier wirkten gleiche absolute Mengen Isopropylalkohol etwas stärker als 1,3-Butandiol.

Bei der Beurteilung dieser Versuchsergebnisse muß berücksichtigt werden, daß Isopropylalkohol toxischer ist als 1,3-Butandiol. Als mittlere tödliche Dosis (LD 50; nach Kärber) wurde für Isopropylalkohol bei Mäusen nach subkutaner Injektion 8,41 cm³/kg, für 1,3-Butandiol 16,51 cm³/kg² ermittelt, d. h. Isopropylalkohol ist im akuten Versuch, subkutan injiziert, etwa doppelt so toxisch wie 1,3-Butandiol. Auch bei

Ratten wirkt Isopropylalkohol, per os gegeben, beträchtlich giftiger als 1,3-Butandiol (LD 50: 1,3-Butandiol 29,42 cm^3/kg[2]; Isopropylalkohol 5,38 bzw. 6,73 cm^3/kg Körpergewicht[5,7]). Entsprechende Beobachtungen wurden bei langdauernder, wiederholter Zufuhr der beiden Alkohole gemacht: Isopropylalkohol zeigte hier schädliche Nebenwirkungen[5], während solche bei 1,3-Butandiol fehlten[4].

Zusammenfassung.

Es wird über einen anticonvulsiven Effekt des 1,3-Butandiol — die anderen geprüften mehrwertigen Alkohole Aethandiol, 1,2-Propandiol, 1, 2, 3-Propantriol, 1, 2, 4-Butantriol waren weniger wirksam — berichtet, der als Schutzwirkung gegenüber dem Cardiazol-Krampftod und als Steigerung der Reizschwelle für den Elektrokrampf in Erscheinung tritt.

Literatur.

[1] Berger, F. M.: J. of Pharmacol. **93**, 470 (1948). — [2] Fischer, L., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Z. exper. Med. **115**, 22 (1949). — [3] Hildebrandt, F.: in Handb. d. Pharmakol., Erg.W. 5. Berlin 1937, S. 151. — [4] Kopf, R., A. Loeser, u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 346 (1950). — [5] Nai Chu, R. L. Driver and P. J. Hanzlik: J. of Pharmacol. **92**, 201 (1948). — [6] Tainter, M. L., E. G. Tainter, W. Sherwood Lawrence, E. N. Neuru, R. W. Lackey, F. P. Ludueña, H. B. Kirtland, jr. and R. I. Gonzalez: J. of Pharmacol. **79**, 42 (1943). — [7] s. Wax, J., F. W. Ellis and A. J. Lehman: J. of Pharmacol. **97**, 229 (1949).

Dr. Gerhard Bornmann, Münster i. W., Westring 12.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 121—127 (1951).

Aus der Medizinischen Klinik Kiel.

1-Alkoxy-2-amino-4-nitrobenzole. II*.

Von

MANFRED KIESE und KLAUS RANNIGER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Januar 1951.)

In einer früheren Arbeit[1] hatten wir Daten über die mittlere tödliche Dosis, die Süßwirkung und die Auswirkungen der chronischen Einwirkung einiger 1-Alkoxy-2-amino-4-nitrobenzole mitgeteilt. Der Propyläther des 1-Oxy-2-amino-4-nitrobenzols hatte die stärkste Süßwirkung und die kleinste mittlere tödliche Dosis. Der Äthyläther war in der Süßwirkung und tödlichen Wirkung schwächer, und der sekundäre Butyläther noch weniger wirksam. Andererseits wurde der Äthyläther sowohl von Ratten wie vom Hunde bei täglicher Gabe länger vertragen als der sekundäre Butyläther. Untersuchungen über die Wirkung der Verbindungen auf das Blut waren damals nur in kleiner Zahl möglich und hatten ergeben, daß diese Amino-nitrobenzole entsprechend ihrer hohen mittleren tödlichen Dosis nur schwach wirksam waren und ihre Wirkungsstärke ähnlich war.

Wir haben durch Untersuchungen an Katzen die Wirkungsstärke und -größe des Äthyl-, Propyl- und sekundären Butyläthers des 1-Oxy-2-amino-4-nitrobenzols für ihre Wirkung auf die roten Zellen bestimmt.

Der Propyläther hatte ebenso wie auf Ratten, auch auf Katzen die stärkste tötende Wirkung. Die mittlere tödliche Dosis der Verbindungen für Katzen wurde nicht bestimmt, doch wurden in diesen und den früheren Untersuchungen[1] insgesamt 13 Katzen durch Dosen der Äther getötet, die weit unter den mittleren tödlichen Dosen für Ratten lagen, und in keinem Falle überlebten Katzen die mittleren tödlichen Dosen für Ratten.

Trotz der größeren Empfindlichkeit der Katzen für die Äther waren diese doch auch in Katzen weniger wirksam als andere einfache Amino- oder Nitrobenzole (vgl. v. BREDOW und JUNG[2] sowie REITER[3]). Insbesondere war die hämiglobinbildende Wirkung, für die Katzen empfindlicher sind als andere Tiere, schwach und an der tötenden Wirkung großer Dosen sicher nicht wesentlich beteiligt, denn es wurde durch keine Dosis eines der Gifte auch nur die Hälfte des Blutfarbstoffs zu Hämiglobin oxydiert.

* I. Mitt. s. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 446 (1949).

Bemerkenswert erscheint an der Hämiglobinbildung, daß die Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der Dosis bei den drei Äthern ganz verschiedene Funktionen sind, obgleich sich die Äther nur durch die Größe des Alkylrestes unterscheiden und diese noch die nächst verwandten Homologen sind. Beim Äthyläther ist die Wirkungsstärke dem Logarithmus der Dosis, beim Propyläther der Dosis selbst und beim sekundären Butyläther ist der Logarithmus der Wirkungsstärke der Dosis proportional. Daher ist eine allgemeingültige Angabe über das Verhältnis der Wirkungsstärken der drei Gifte nicht zu machen. In kleinen Dosen ist der Äthyläther am stärksten und der Butyläther am schwächsten wirksam, während in den größten ertragenen Dosen der Butyläther die stärkste Wirkung besitzt.

Es ist unwahrscheinlich, daß diese Unterschiede auf wesentlichen Unterschieden in dem Wirkungsmechanismus der drei Gifte beruhen. Vermutlich sind Abweichungen in der Löslichkeit oder der Reaktionsgeschwindigkeit die Ursache, und die erheblichen Unterschiede der Wirkungsgeschwindigkeit und Wirkungsdauer sind wohl auf die gleichen Bedingungen zurückzuführen. In diesen beiden Qualitäten stimmen die Ergebnisse dieser Untersuchung mit den früheren Beobachtungen[1] überein. Mit zunehmender Größe des Alkylrestes wird die Wirkungsgeschwindigkeit geringer und die Wirkungsdauer größer.

Die Bildung von Heinz-Körpern scheint bei den drei Äthern ungefähr gleich stark zu sein.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen der durch die Äther getöteten Katzen bestätigen die früheren Beobachtungen, daß vornehmlich die Leber durch die Gifte geschädigt werden kann.

Versuch.

A. Methoden.

Alle Untersuchungen wurden an Katzen durchgeführt. Die Alkoxyaminonitrobenzole wurden den Tieren in öliger Lösung intraperitonell injiziert. Zur intraperitonealen Injektion wurden die Tiere in eine flache Äthernarkose gebracht, aus der sie nach wenigen Minuten erwachten. Der Äthyl- und Propyläther wurden zu 4 g/100 ml in Olivenöl gelöst und der Butyläther zu 4—10 g/100 ml.

Blut wurde den Tieren durch kleine Einschnitte des Ohres entnommen. Von stark geschädigten Tieren mußte Blut durch Herzpunktion gewonnen werden.

Nach der Injektion eines der Gifte wurde die Körpertemperatur der Tiere fortlaufend kontrolliert. Sank die Temperatur im Rectum unter 35,5° C, so wurden die Tiere durch Bestrahlung erwärmt.

Die Bestimmung von Hämiglobin und Hämoglobin erfolgte mit der optischen Kohlenoxydmethode[4]. Heinz-Körper wurden durch Vitalfärbung mit Brillantkresylblau oder Nilblau im Objektträgerausstrich dargestellt.

Organe von Tieren, die durch Gifte getötet waren, wurden histologisch untersucht.

B. Ergebnisse.

1. 1-Äthoxy-2-amino-4-nitrobenzol.

Erhöhungen der Hämiglobinkonzentration im Blute wurden bereits nach Dosen beobachtet, die den Allgemeinzustand der Tiere noch nicht

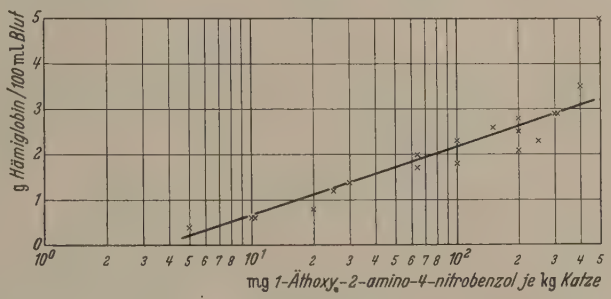


Abb. 1. Höchste Hämiglobinkonzentration im Blute von Katzen nach intraperitonealer Injektion von 1-Äthoxy-2-amino-4-nitrobenzol in Abhängigkeit von der Dosis. Abszisse logarithmisch geteilt.

merklich beeinflußten. Dosen von 10 mg/kg erhöhten die Hämiglobinkonzentration um 0,5 g/100 ml. Die durch verschiedene Dosen erreichte Hämiglobinkonzentration ist in Abb. 1 aufgezeichnet. Nach diesen Daten ist die Wirkungsstärke des Äthyläthers nach intraperitonealer Injektion dem Logarithmus der Dosis proportional. Die höchst erreichbare Hämiglobinkonzentration scheint um 4 g/100 ml zu liegen. Durch weitere Erhöhung der Dosen war diese Wirkung nicht mehr zu steigern, da die Tiere vor Erreichen der höchsten Hämiglobinkonzentration starben. Die Hämiglobinkonzentration stieg nämlich sehr langsam an und erreichte nach kleineren Dosen in 4—8 Std, nach größeren Dosen erst in 10—20 Std den Höchstwert.

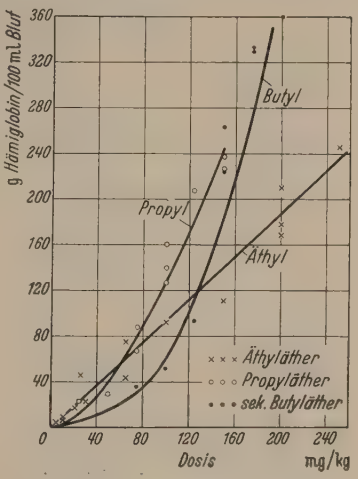


Abb. 2. Wirkungsgröße der Hämiglobinbildung durch den Äthyl-, Prophyl- und Butyläther des 1-Oxy-2-amino-4-nitrobenzols in Abhängigkeit von der Größe der intraperitoneal injizierten Dosis.

Die Wirkungsdauer des Äthyläthers war sehr lang und wird am besten durch die im Vergleich zur geringen Wirkungsstärke großen Wirkungsgrößen veranschaulicht. Unter Wirkungsgröße der Hämiglobinbildung wird die in der Volumeneinheit Blut gebildete Gesamtmenge Hämiglobin verstanden, die aus der Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins errechnet wird. Die Wirkungsgröße des Äthyläthers war der Dosis proportional.

Die Abhängigkeit der Wirkungsgröße von der Dosis ist in Abb. 2 dargestellt. Wenn wir die Blutmenge der Katze zu 70 ml je kg annehmen, so ist zu errechnen, daß jedes der Katze injizierte Mol des Äthyläthers im Mittel 7 Äquivalente Hämiglobin bildete.

Die Bildung von Heinz-Körpern verlief langsamer als die Hämiglobinbildung. Sie erreichten 20—40 Std nach der Injektion den Höchstwert. Dieser ist für die angewandten Dosen in Tab. 1 angegeben. Die Werte streuen sehr stark, so daß die Beziehung zwischen Dosis und Wirkungsstärke erst durch eine wesentlich größere Zahl von Versuchen genau zu ermitteln wäre. Die manchmal ziemlich große Zahl von roten Zellen mit Heinz-Körpern im Blute der Katzen vor der Einwirkung eines Giftes erschwert die Messung dieser Wirkung.

Nach Dosen von 100 mg/kg wurden Zeichen der Lähmung des Zentralnervensystems bemerkbar: Schläfrigkeit und unsicherer Gang. Dosen von 200 mg/kg erwirkten nach 3—5 Std Seitenlage, in der die Tiere aber auf stärkere Berührung oder Lageänderung noch reagierten. 300 mg/kg wirkten in den 3 Versuchen, in denen sie angewandt wurden, tödlich, ebenso 400 (1 Tier) und 500 mg/kg (2 Tiere). Der Tod trat 4—35 Std nach der Injektion ein. 1—3 Std nach der Injektion dieser Dosen lagen die Tiere auf der Seite. Bald nach Beginn der Seitenlage reagierten die Tiere nicht mehr auf Druck oder Lageänderung und machten von Zeit zu Zeit Laufbewegungen.

Tabelle 1. *Bildung von* Heinz-*Körpern in roten Zellen der Katze durch die Äthyl-, Propyl- und sek. Butyläther des 1-oxy-2-amino-4-nitrobenzols. Die Zahlen geben den Höchstwert nach Einwirkung der betreffenden Dosis an und beziehen sich nur auf die Zunahme der* Heinz-*Körper nach der Einwirkung.*

Dosis mg/kg	Rote Zellen mit Heinz-Körpern in % der gesamten roten Zellen nach		
	Äthyl-	Propyl-	sek. Butyl-
25	0,10		
	0,10		
	0,10		
50	0,23		
	0,50	0,10	
75		0,15	0,28
100	0,30	0,07	0,34
	0,36	0,08	
		0,15	
125		0,30	0,34
150	0,30	0,28	0,35
		0,60	0,38
175			0,32
			0,42
200	0,30		0,50
	0,60		0,55
	0,80		
250	0,50		0,82
300	0,80		

Die histologische Untersuchung der Organe von 3 Katzen, die durch 300 mg Äthyläther/kg getötet worden waren, ließ lediglich an den Lebern Veränderungen erkennen: Erweiterung der Zentralvenen mit Bildung von Blutseen, perikapilläres Ödem, Dissoziation der Zellen und Vakuolenbildung, besonders in den Zentren der Läppchen, feintropfige Verfettung der Läppchenzentren.

2. 1-Propoxy-2-amino-4-nitrobenzol.

Durch Dosen des Propyläthers unter 100 mg/kg wurde die Hämiglobinkonzentration im Blute der Katzen weniger erhöht als durch entsprechende Dosen des Äthyläthers. Bei Dosen von 100—150 mg/kg erreichte der Propyläther dessen Wirkungsstärke. So ergab sich für den Propyläther eine andere Dosiswirkungsfunktion als für den Äthyläther, nämlich die aus Tab. 2 zu entnehmende annähernde Proportionalität von Dosis und Wirkungsstärke. Die Wirkung von Dosen über 150 mg/kg konnte nicht ausgewertet werden, da Dosen von 175 und 200 mg/kg Katzen bereits im Laufe von 3 Std töteten. Der Anstieg der Hämiglobinkonzentration verlief unter der Einwirkung des Propyläthers langsamer als unter der des Äthyläthers. Nach Dosen von 100—150 mg/kg wurde der Höchstwert erst in 20—30 Std erreicht.

Tabelle 2. *Höchste Hämiglobinkonzentration im Blute von Katzen nach intraperitonealer Injektion von 1-Propoxy-2-amino-4-nitrobenzol in Abhängigkeit von der Dosis.*

Dosis 1-Propoxy-2-amino-4-nitrobenzol mg/kg	Hämiglobin g/100 ml Blut
25	0,4
50	0,8
75	0,9
100	1,3
	1,5
	1,5
125	2,1
150	2,7
	2,9

Die Wirkungsdauer des Propyläthers war länger als die des Äthyläthers. Dadurch ergab sich für Dosen über 100 mg/kg eine größere Wirkungsgröße der Hämiglobinbildung, die für 150 mg/kg fast doppelt so groß war wie die des Äthyläthers (Abb. 2). Entsprechend der nicht linearen Beziehung von Dosis und Wirkungsgröße war auch die je Mol Propyläther gebildete Menge Hämiglobin von der Dosis abhängig. Sie betrug für die Dosis von 150 mg/kg 13 Äquivalent Hämiglobin je Mol Propyläther.

Die Stärke der Bildung von Heinz-Körpern ist aus den im vorigen Kapitel erwähnten Gründen von der des Äthyläthers nicht zu unterscheiden (s. Tab. 1).

Wirkungen auf das Nervensystem waren schon nach Dosen von 50 und 75 mg/kg in der verlangsamten Spontanbewegung und Reaktion auf Reize erkennbar.

In den Organen der beiden 2½ bzw. 3 Std nach der Injektion von 200 bzw. 175 mg Propyläther/kg gestorbenen Tiere wurden außer einer starken Blutfülle der Leber pathologische Veränderungen nicht gefunden.

3. 1-sek. Butoxy-2-amino-4-nitrobenzol.

Die Hämiglobinbildung durch den Butyläther war in ungewöhnlicher Weise von der injizierten Dosis abhängig. Während Dosen am 100 mg/kg die Hämiglobinkonzentration nur um weniger als 1 g/100 ml Blut erhöhten, nahm die Wirkungsstärke mit der Vergrößerung der Dosis sehr stark zu. Nach den in Abb. 3 niedergelegten Daten war der Logarithmus der Wirkungsstärke der Dosis proportional.

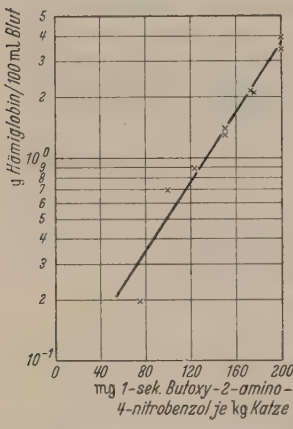


Abb. 3. Höchste Hämiglobinkonzentration im Blute von Katzen nach intraperitonealer Injektion von 1-sek. Butoxy-2-amino-4-nitrobenzol in Abhängigkeit von der Dosis. Ordinate logarithmisch geteilt.

Der Ablauf der Wirkung war viel langsamer als der der beiden anderen Äther. Erst nach 20—40 Std war die höchste Hämiglobinkonzentration erreicht. Trotz der sehr langen Wirkungsdauer war die Wirkungsgröße der Dosen unter 150 mg/kg infolge der geringen Wirkungsstärke kleiner als die der anderen Äther, nahm dann aber mit der Dosis wiederum sehr stark zu (Abb. 2). Die von jedem injizierten Mol Butyläther gebildete Menge Hämiglobin betrug für die Dosis von 200 mg/kg 16 Äquivalent Hämiglobin je Mol Butyläther.

Die Bildung von Heinz-Körpern entsprach in der Stärke der Wirkung der beiden anderen Äther (s. Tab. 1).

Dosen, welche die Tiere nicht töteten, hatten kaum Auswirkungen auf den Allgemeinzustand der Tiere. 2 Katzen, die 250 mg Butyläther/kg erhalten hatten, starben nach 55 bzw. 65 Std und eine weitere 40 Std nach der Injektion von 300 mg/kg.

Die histologische Untersuchung der Organe dieser Tiere ergab wiederum nur an den Lebern Veränderungen: starke Blutfüllung besonders der Läppchenzentren, Zelldissoziation und perikapilläres Ödem.

Zusammenfassung.

Die Wirkung des Äthyl-, Propyl- und sekundären Butyläthers des 1-Oxy-2-amino-4-nitrobenzols an Katzen, insbesondere die Wirkungen auf die roten Zellen wurden gemessen. Katzen waren für die Gifte empfindlicher als Ratten.

Die Hämiglobinbildung nach intraperitonealer Injektion war gering. Auch tödliche Dosen oxydierten nur weniger als die Hälfte des Blutfarb-

stoffs zu Hämiglobin. Die Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der Dosis war bei den 3 Giften verschieden.

Der Äthyläther wirkte am schnellsten und hatte die kleinste Wirkungsdauer. Der sekundäre Butyläther wirkte am langsamsten und hatte die längste Wirkungsdauer.

Die Bildung von Heinz-Körpern durch die Gifte war ebenfalls nicht stark. Die Wirkungsstärke der Gifte war ähnlich. Etwa bestehende geringe Unterschiede konnten infolge der starken Streuung der Wirkung nicht erfaßt werden.

Literatur.

[1] Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 446 (1949). — [2] v. Bredow, M., u. F. Jung: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 335 (1942). — [3] Reiter, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 327 (1948). — [4] Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 190 (1947).

Prof. Dr. Manfred Kiese, Marburg (Lahn), Pharmakol. Institut, Pilgrimstein 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 128—138 (1951).

Aus der Medizinischen Klinik Kiel.

Kinetik der Hämiglobinbildung. XI*.

Die katalytische Wirkung des Hämoglobins auf die Oxydation von Phenylhydroxylamin durch Sauerstoff.

Von

MANFRED KIESE und ARNO VON RUCKTESCHELL.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Januar 1951.)

HEUBNER, MEIER und RHODE[1] haben entdeckt, daß Hämoglobin die Oxydation von Phenylhydroxylamin durch Sauerstoff beschleunigt. Diese Wirkung beruht einerseits auf der in ihrem Mechanismus noch nicht aufgeklärten gekoppelten Oxydation von Phenylhydroxylamin und Hämoglobin durch Sauerstoff. Da Phenylhydroxylamin das bei der gekoppelten Oxydation von Hämoglobin und Phenylhydroxylamin gebildete Hämiglobin wieder zu Hämoglobin reduziert[1, 2], war zu erwarten, daß Hämoglobin oder Hämiglobin eine katalytische Oxydation von Phenylhydroxylamin bewirken können. Wir haben diese Wirkung untersucht.

Die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme aus der Gasphase durch eine Lösung von Phenylhydroxylamin, Sauerstoff und Oxyhämoglobin ist auch am Beginn der Reaktion geringer als die Geschwindigkeit der Hämiglobinbildung. Sie ist vielmehr von der Größenordnung der Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins durch Phenylhydroxylamin. Nach unseren Messungen der Geschwindigkeit der Hämiglobinbildung in Lösungen von Phenylhydroxylamin, Hämoglobin und Sauerstoff[3] ist anzunehmen, daß unter den Bedingungen der hier beschriebenen Versuche beim Auflösen von Sauerstoff in Lösungen von Phenylhydroxylamin und Hämoglobin beim Erreichen des Lösungsgleichgewichtes, also nach 2—3 sec, das Hämoglobin schon bis auf einen kleinen Rest zu Hämiglobin oxydiert ist und die Messungen der Sauerstoffaufnahme dann im wesentlichen die Wirkung des Hämiglobins erfassen. Diese Annahme wird durch die fast gleich starke Wirkung von Hämiglobin bestätigt. Dann könnte die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme von der Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins durch Phenylhydroxylamin bestimmt werden. Unsere Messungen zeigen aber eine Reihe von Abweichungen in der Kinetik der durch Hämoglobin oder

* X. Mitteilung s. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 410 (1950).

Hämiglobin beschleunigten Sauerstoffaufnahme und der Kinetik der Reduktion von Hämiglobin durch Phenylhydroxylamin auf.

Die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen ist der Hämoglobinkonzentration proportional, nicht wie die Reduktion des Hämiglobins annähernd dem Quadrat dessen Konzentration. Durch den Sauerstoffdruck wird die Reaktionsgeschwindigkeit in eigenartiger Weise beeinflußt: bis zu einem Druck von etwa 80 Torr wird die Geschwindigkeit mit steigendem Sauerstoffdruck größer und wird durch höhere Drucke vermindert. Andererseits ist die Reaktion zwar für Kohlenoxyd empfindlich, doch steht die Stärke der Hemmung der Reaktion durch Kohlenoxyd zu der hoher Sauerstoffdrucke nicht annähernd im gleichen Verhältnis wie die Affinität zum Hämoglobin. Die Reaktion hat ferner einen sehr hohen Temperaturkoeffizienten $Q_{10} = 5{,}0$, der etwa dem des Zerfalls von Oxyhämoglobin entspricht. Sowohl die Reduktion von Hämiglobin durch Phenylhydroxylamin als auch die Hämiglobinbildung durch Sauerstoff und Phenylhydroxylamin haben nur Temperaturkoeffizienten von $Q_{10} = 2$. Schließlich wird die Reaktion durch Wasserstoffionen stärker gehemmt als sowohl die Reduktion von Hämiglobin durch Phenylhydroxylamin als die gekoppelte Oxydation von Hämoglobin und Phenylhydroxylamin.

Demnach kann die katalytische Wirkung des Hämoglobins auf die Oxydation von Phenylhydroxylamin durch Sauerstoff nicht ausschließlich in einer Folge der gekoppelten Oxydation von Hämoglobin und Phenylhydroxylamin bestehen, sondern es muß noch ein oder mehrere Reaktionen mit den genannten Eigenschaften mitwirken. Aus den Ergebnissen der Messung der Ausbeute an Hämiglobin in der gekoppelten Oxydation von Hämoglobin und Phenylhydroxylamin ist bekannt[3], daß die Kopplung dieser Reaktionen nicht ganz fest ist. Auch diese Tatsache weist darauf hin, daß in dem Ablauf der Umsetzungen von Hämoglobin, Phenylhydroxylamin und Sauerstoff mehrere Reaktionen oder Gleichgewichte mitwirken.

Die katalytische Wirkung des Hämoglobins ist zwar nicht auffallend stark — Kupfer ist wirksamer — aber an die besondere Struktur des Hämoglobins gebunden. Hämin ist viel weniger wirksam und Eisen noch weniger als Hämin.

Versuche.

a) Methoden.

Die Geschwindigkeit der Oxydation des Phenylhydroxylamins durch Sauerstoff wurde durch manometrische Bestimmung der Sauerstoffaufnahme der Lösung in einer schon früher angewandten Apparatur[4] gemessen. Das Reaktionsgefäß hatte an einem Ende eine mit einem eingeschliffenen Stopfen verschließbare Öffnung, so daß es vom Manometer aus mit Gasen durchströmt werden konnte. Das Manometersystem und das angeschlossene Reaktionsgefäß wurden zunächst zur Entfernung

von Sauerstoff evakuiert und mit Stickstoff durchströmt, der über heißem Kupfer von Sauerstoff gereinigt war. Dann wurde eine sauerstofffreie Phenylhydroxylaminlösung in das Gefäß gegeben, das Gefäß sofort verschlossen und das ganze System auf Wasserdampfdruck evakuiert. Nachdem ein bestimmter Sauerstoffdruck eingelassen war, wurde das System abgeschlossen, das Differentialmanometer eingestellt und das Reaktionsgefäß mit 450 Doppelschwingungen $\times$ min^{-1} geschüttelt. Zur Messung der Wirkung von Hämoglobin und anderen Stoffen auf die Oxydationsgeschwindigkeit wurde deren Lösung zunächst in das Reaktionsgefäß gegeben und unter langsamem Schütteln durch Überleiten von Stickstoff vom Sauerstoff befreit.

Reaktionsgefäß und Differentialmanometer hatten beim Anfangsstand des Manometers ein Volumen von 74 ml. Die Flüssigkeitsmenge im Reaktionsgefäß betrug 20 ml, so daß ein Gasraum von 54 ml blieb.

Das Reaktionsgefäß und das Kompensationsgefäß des Differentialmanometers wurden in einem Wasserbad von 25° C gehalten.

Durch das schnelle Schütteln stellte sich das Lösungsgleichgewicht in 2—3 sec ein. Die Reaktionsgeschwindigkeit wurde unter Berücksichtigung der Lösung des Sauerstoffs für den Anfang der Reaktion errechnet, da im weiteren Verlauf durch Bildung von Nitrosobenzolhämoglobin, Azoxybenzol und Denaturierung von Blutfarbstoff die einzelnen geschwindigkeitsbestimmenden Größen unkontrollierbar wurden. Die Reaktionsgeschwindigkeiten wurden ausgedrückt durch die Mole Sauerstoff, die von einem Liter Phenylhydroxylaminlösung in 1 min aufgenommen wurden (Mol $O_2 \times l^{-1} \times min^{-1}$).

Phenylhydroxylamin wurde nach Bamberger und Wohl[5] dargestellt und zur Entfernung von Verunreinigungen, besonders Kupfer, mehrmals aus Alkohol umkristallisiert.

Hämoglobinlösungen wurden durch Auflösen gewaschener roter Zellen vom Rinde gewonnen, Hämiglobinlösungen in gleicher Weise aus Zellen, die mit Nitrit behandelt und danach gewaschen waren. Verdoglobin NO_2 wurde durch Umsetzung von Hämoglobin mit Nitrit und Wasserstoffperoxyd und anschließende Dialyse erhalten[6]. Die Bestimmung der Blutfarbstoffe erfolgte photometrisch[7, 8]. Hämin wurde nach Schalfejeff[9] aus Rinderblut dargestellt und Protoporphyrin aus Hämin durch Enteisenung in Ameisensäure mit Eisen[10], Globin wurde aus kristallinem Pferdehämoglobin erhalten durch Abtrennung des Häms in salzsaurem Azeton[11]. Abgesehen von den Versuchen zur Messung der Wirkung der Wasserstoffionen wurden alle Untersuchungen in Lösungen von 0,1 mol Phosphat und einer Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-5,8}$ Mol $\times l^{-1}$ durchgeführt.

b) Ergebnisse.

1. Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen.

Unter einem Sauerstoffdruck von 200 Torr nahmen Phenylhydroxylaminlösungen von 2×10^{-2} Mol $\times L^{-1}$ in Phosphat vom p_H 5,8 bei 25° C Sauerstoff nur sehr langsam auf. Die Reaktionsgeschwindigkeit war bei den verschiedenen Phenylhydroxylaminpräparaten nicht gleich und schwankte zwischen 0 und 5×10^{-6} Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1}$. Präparate, die mehrere Tage im Vakuumexsikkator aufbewahrt waren, wurden meist schneller oxydiert als frisch hergestellte. In alkalischer Lösung war die Oxydationsgeschwindigkeit größer, war aber ebenfalls von Präparat zu Präparat nicht gleich. Die kleinsten Oxydationsgeschwindig-

keiten sowohl in saurer wie alkalischer Lösung wurden an Präparaten gemessen, die vielmals in einem Zuge umkristallisiert waren und sogleich nach dem letzten Umkristallisieren untersucht wurden. Demnach beschleunigten Verunreinigungen (Spuren von Kupfer, Oxydationsprodukte des Phenylhydroxylamins) die Oxydation durch Sauerstoff. Da nicht für jede der vielen Messungen ein Präparat mit minimaler Sauerstoffaufnahme hergestellt werden konnte, wurde für die Bestimmung der katalytischen Wirkung eines Stoffes die Sauerstoffaufnahme des angewandten Phenylhydroxylaminpräparates gemessen und zur Ermittlung einer katalytischen Wirkung von der beobachteten Reaktionsgeschwindigkeit abgezogen.

2. Katalytische Wirkung des Hämoglobins.

Zur Bestimmung der Wirkung des Hämoglobins auf die Geschwindigkeit der Oxydation von Phenylhydroxylamin durch Sauerstoff wurde einerseits die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme der Lösungen von $2{,}07 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ mit Hämoglobin in Konzentrationen von 5×10^{-5} bis 5×10^{-3} Äquivalent $\times L^{-1}$ und andererseits die Sauerstoffaufnahme von Lösungen mit 10^{-3} Äquivalent Hämoglobin $\times L^{-1}$ und 3×10^{-3} bis 10^{-1} Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ gemessen.

Mit Beginn der Durchmischung von Hämoglobin, Phenylhydroxylamin und Sauerstoff durch das schnelle Schütteln in der Apparatur wurde zunächst Sauerstoff schnell gelöst und vom Hämoglobin gebunden. Dieser schnelle Druckabfall ging in eine stetige Druckabnahme über. Ein Druckanstieg am Anfang der Umsetzungen, wie er bei der Zugabe von Phenylhydroxylamin in niedriger Konzentration zu Oxyhämoglobin in hoher Konzentration beobachtet wird[12], trat nicht ein.

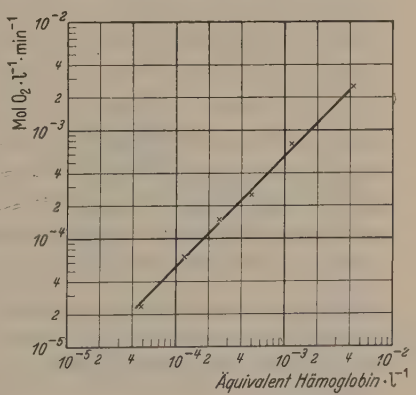


Abb. 1. Sauerstoffaufnahme der Lösungen von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times 1^{-1}$ in Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration. p_H = 5,8, Temp. 25° C.

Bei konstanter Phenylhydroxylaminkonzentration ($2{,}07 \times 10^{-2}$ Mol $\times L^{-1}$) war die katalytische Wirkung des Hämoglobins in dem angegebenen Konzentrationsbereich dessen Konzentration proportional. Bei 25° C und p_H 5,8 betrug die Wirkung des Hämoglobins 6×10^{-2} Mol $O_2 \times min^{-1} \times$ Äquivalent^{-1} (Abb. 1).

Bei konstanter Hämoglobinkonzentration von 10^{-3} Äquivalent $\times L^{-1}$ war die Wirkung des Hämoglobins in Phenylhydroxylaminkonzentrationen

von 3×10^{-3} bis 10^{-1} Mol $\times$ L^{-1} dem Logarithmus der Phenylhydroxylaminkonzentration proportional (Abb. 2), während die Sauerstoffaufnahme 2×10^{-4} Mol $\times$ L$^{-1} \times$ min^{-1} für eine Phenylhydroxylaminkonzentration von 10^{-2} Mol $\times$ L^{-1} betrug, erreichte sie einen Wert von 4×10^{-4} Mol $\times$ L$^{-1} \times$ min^{-1} für eine Phenylhydroxylaminkonzentration von 10^{-1} Mol $\times$ L^{-1}.

In einer größeren Reihe von Versuchen wurden die Messungen 30 min nach Reaktionsbeginn abgebrochen und im Reaktionsgemisch sofort der Gehalt an Hämoglobin und Hämiglobin bestimmt. In keinem Falle wurde zu diesem Zeitpunkt, bis zu dem das Gemisch bereits mehrere Mole Sauerstoff je Äquivalent Hämoglobin aufgenommen hatte, eine vollständige Umwandlung des Hämoglobins in Hämiglobin gefunden, sondern der größere Teil des Blutfarbstoffs lag immer als Hämoglobin vor. In der Tab. 1 sind die Mittel aus 6 Messungen an Reaktionsgemischen einer bestimmten Zusammensetzung angegeben. Das 30 min nach Reaktionsbeginn gefundene Verhältnis der Konzentrationen von Hämoglobin und Hämiglobin war von den Anfangskonzentrationen an Phenylhydroxylamin, Blutfarbstoff, Sauerstoff und Wasserstoffionen abhängig, doch war der Anteil an Hämiglobin nie größer als der des Hämoglobins. In der Tab. 1 sind auch Ergebnisse von Messungen der Wirkung des Hämiglobins (s. u. S. 134) mitgeteilt. Diese zeigen, daß 30 min nach Reaktionsbeginn das gleiche Verhältnis von Hämoglobin zu Hämiglobin gefunden wurde, wenn nicht Hämoglobin, sondern Hämiglobin den Phenylhydroxylaminlösungen zugesetzt wurde.

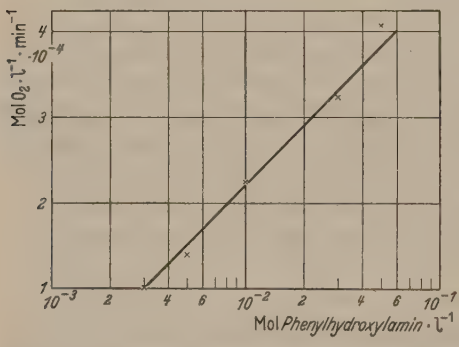


Abb. 2. Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen verschiedener Konzentration beikonstanter Hämoglobinkonzentration von 8×10^{-9} Äquivalent $\times$ L^{-1}. p_H = 5,8, Temp. 25° C.

Tabelle 1. *Konzentration an Hämoglobin und Hämiglobin in Lösungen von Phenylhydroxylamin, Blutfarbstoff und Sauerstoff 30 min nach Reaktionsbeginn. Anfangskonzentration: Phenylhydroxylamin* $2{,}1 \times 10^{-2}$ *Mol* $\times$ L^{-1}, *Sauerstoffdruck 200 Torr,* p_H = *5,8, Temp. 25° C.*

Anfangskonzentration Blutfarbstoff Äquivalent $\times$ L^{-1}	Nach 30 min		
	Aufgenommener Sauerstoff Mol $\times$ L^{-1}	Hb^{II} Äq. $\times$ L^{-1}	Hb^{III} Äq. $\times$ L^{-1}
$1{,}3 \times 10^{-3}$ Hb^{II}	$5{,}6 \times 10^{-3}$	8×10^{-4}	$2{,}2 \times 10^{-4}$
$1{,}5 \times 10^{-3}$ Hb^{III}	$5{,}8 \times 10^{-3}$	$9{,}5 \times 10^{-4}$	$2{,}5 \times 10^{-4}$

3. Einfluß von Wasserstoffionen auf die Hämoglobinwirkung.

Zur Bestimmung des Einflusses der Wasserstoffionen auf die katalytische Wirkung des Hämoglobins wurde die Sauerstoffaufnahme von Lösungen mit $2{,}07 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ und 5×10^{-5} bis 5×10^{-3} Äquivalent Hämoglobin $\times L^{-1}$ gemessen, die auf die p_H-Werte 5,0, 5,8, 7,4 bzw. 8,0 eingestellt waren. Für die Lösungen mit einem p_H von 5,8 und 7,4 wurde Phosphat als Puffer verwendet, für p_H 5,0 Azetat und für p_H 8,0 Diäthylbarbiturat.

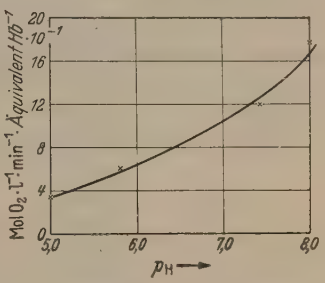


Abb. 3. Abhängigkeit der Wirkung von Hämoglobin auf die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme einer Phenylhydroxylaminlösung v. $2{,}07 \times 10^{-2}$ Mol $\times L^{-1}$ von der Wasserstoffionenkonzentration. Sauerstoffdruck 200 Torr, Temp. 25° C.

In den Lösungen von p_H 5,0 und 8,0 wurde in dem untersuchten Konzentrationsbereich ebenso wie in Lösungen von p_H 5,8 (s. o.) Proportionalität zwischen Hämoglobinkonzentration und Steigerung der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme gefunden. Doch war die Wirkung des Hämoglobins bei den verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen nicht gleich stark, sondern in höheren schwächer als in niederen. In Lösungen vom p_H 8,0 war die Hämoglobinwirkung etwa 6mal so stark wie in Lösungen vom p_H 5,0. In der Abb. 3 ist die Abhängigkeit der Hämoglobinwirkung von der Wasserstoffionenkonzentration dargestellt.

4. Einfluß von Sauerstoff und Kohlenoxyd auf die Hämoglobinwirkung.

Die Abhängigkeit der Wirkung des Hämoglobins vom Sauerstoffdruck wurde in Lösungen mit $1{,}3 \times 10^{-3}$ Äquivalent Hämoglobin $\times L^{-1}$ untersucht. Der Sauerstoffdruck wurde zwischen 10 und 680 Torr variiert.

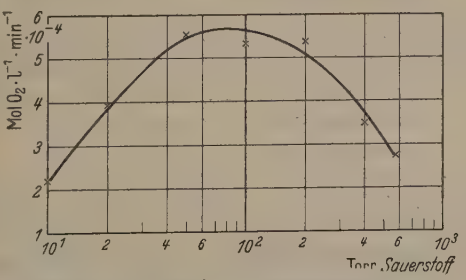


Abb. 4. Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme einer Lösung von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ und $1{,}3 \times 10^{-3}$ Äquivalent Hämoglobin $\times L^{-1}$ vom Sauerstoffdruck. $p_H = 5{,}8$, Temp. 25° C.

Durch Erhöhung des Sauerstoffdrucks von 10 auf 50 Torr wurde die Geschwindigkeit der durch Hämoglobin bewirkten Sauerstoffaufnahme auf etwa den dreifachen Wert erhöht. Durch weitere Steigerung des Sauerstoffdrucks wurde die Wirkung des Hämoglobins gehemmt. Unter einem Sauerstoffdruck von 680 Torr war die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme fast gleich der bei 10 Torr (Abb. 4).

Die Sauerstoffaufnahme der gleichen Lösungen unter einem Sauerstoffdruck von 200 Torr wurde durch die Anwesenheit von Kohlenoxyd auffallend wenig beeinflußt. Ein Kohlenoxyddruck von 10 Torr hemmte die Reaktion noch gar nicht

und erst ein Kohlenoxyddruck von 200 Torr verminderte die Reaktionsgeschwindigkeit auf gleiche Werte wie ein Sauerstoffdruck von 600 Torr. Die Hemmung der Hämoglobinwirkung durch Kohlenoxyd war in dem untersuchten Bereich von 10 bis 600 Torr dem Logarithmus des Kohlenoxyddrucks proportional. Die Messungsergebnisse sind in Tab. 2 wiedergegeben.

Tabelle 2. *Wirkung von Kohlenoxyd auf die Sauerstoffaufnahme einer Lösung von* $2{,}1 \times 10^{-2}$ *Mol Phenylhydroxylamin* $\times L^{-1}$ *und* $1{,}3 \times 10^{-3}$ *Äquivalent Hämiglobin* $\times L^{-1}$ *unter einem Sauerstoffdruck von 200 Torr.* $p_H = 5{,}8$ *Temp. 25° C.*

pCO Torr	log. pCO	Mol $O_2 \times 1^{-1}$ $\times 10^4 \times \text{min}^{-1}$
10	1,00	5,2
20	1,30	4,3
50	1,70	3,9
100	2,00	3,3
200	2,30	2,5
400	2,60	2,0
600	2,78	1,6

5. Temperaturabhängigkeit der Hämoglobinwirkung.

Die Temperaturabhängigkeit der Hämoglobinwirkung wurde aus Messungen bei 0—35° C in Lösungen mit 2×10^{-2} Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ und $1{,}3 \times 10^{-3}$ Äquivalent Hämoglobin $\times L^{-1}$ vom p_H 5,8 ermittelt. Die bei verschiedenen Temperaturen gemessenen Anfangsgeschwindigkeiten sind in Tab. 3 wiedergegeben. Aus ihnen ergibt sich ein Temperaturkoeffizient der Reaktion von $Q_{10} = 5{,}0$.

Tabelle 3. *Abhängigkeit der Wirkung des Hämoglobins auf die Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen von der Temperatur. Phenylhydroxylamin* $2{,}1 \times 10^{-2}$ *Mol* $\times L^{-1}$, *Hämoglobin* $1{,}3 \times 10^{-3}$ *Äquivalent* $\times L^{-1}$. $p_H = 5{,}8$.

Temp. Grad C	Mol $O_2 \times L^{-1} \times \text{min}^{-1}$
0	$1{,}1 \times 10^{-5}$
12	$7{,}5 \times 10^{-5}$
25	$6{,}0 \times 10^{-4}$
35	$2{,}4 \times 10^{-3}$

6. Wirkung von Hämoglobinderivaten.

Hämiglobin beschleunigte die Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen ebenfalls. In einer Lösung von 2×10^{-2} Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ war Hämiglobin in Konzentrationen um 10^{-3} Äquivalent $\times L^{-1}$ nur etwa halb so stark wirksam wie Hämoglobin. Höhere Hämiglobinkonzentrationen erreichten die Wirkungsstärke des Hämoglobins (Abb. 5). Wahrscheinlich beruht der Unterschied der Wirkung des Hämiglobins darauf, daß das Hämiglobin zunächst vom Phe-

nylhydroxylamin reduziert werden muß. Diese Reaktion verläuft bei niedrigen Hämiglobinkonzentrationen langsam, erreicht aber infolge der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom Quadrat der Hämiglobinkonzentration bei Konzentrationen von 5×10^{-3} Äquivalent $\times$ L^{-1} eine Geschwindigkeit, die gegenüber der der Sauerstoffaufnahme der Phenylhydroxylaminlösung groß genug ist, in sehr kurzer Zeit einen großen Teil des Hämiglobins zu reduzieren[12].

Auf die Ähnlichkeit der Wirkung des Hämiglobin mit der des Hämoglobins deutete auch die in Tab. 1 mitgeteilten Messungen der Konzentration an Hämoglobin und Hämiglobin in den Reaktionsgemischen 30 min nach Reaktionsbeginn. Das Verhältnis der Konzentrationen an Hämoglobin und Hämiglobin war das gleiche wie bei Verwendung von Hämoglobin als Katalysator.

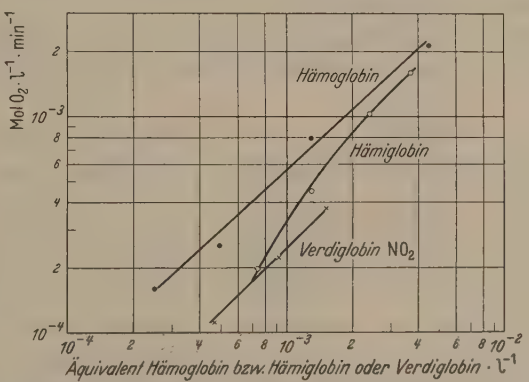


Abb. 5. Beschleunigung der Sauerstoffaufnahme einer Lösung mit 2×10^{-2} Mol Phenylhydroxylamin $\times$ L^{-1} vom p_H 5,8 durch Hämiglobin und Verdoglobin. Sauerstoffdruck 200 Torr, Temp. 25° C.

Durch Zusatz von Azid wurde die Wirkung des Hämiglobins gehemmt. In Lösungen von $1{,}8 \times 10^{-3}$ Äquivalent Hämiglobin $\times$ L^{-1} und $7{,}5 \times 10^{-3}$ Mol Azid $\times$ L^{-1} betrug die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme nur 4×10^{-4} Mol $\times$ L^{-1} $\times$ min^{-1} gegenüber 10^{-3} Mol $\times$ L^{-1} $\times$ min^{-1} ohne Azid. Demnach kommt dem Hämiglobinazid auch noch eine katalytische Wirkung zu. Da das Hämiglobinazid eine Dissoziationskonstante von etwa 10^{-5} hat[13], konnte unter den genannten Versuchsbedingungen nur etwa 1% des Hämiglobins ungebunden vorhanden sein.

Die Wirkung des *Verdoglobins* wurde mit Lösungen von Verdoglobin NO_2 geprüft, die infolge unvollständiger Umwandlung von Hämoglobin in Verdoglobin noch 5—10% des Blutfarbstoffs als Hämiglobin enthielten. In dem engen Konzentrationsbereich, in dem die Wirkung des Verdiglobins geprüft werden konnte, war diese etwa halb so stark wie die des Hämoglobins (Abb. 5). Durch Kohlenoxyd wurde die Verdoglobinwirkung ebenso gehemmt wie die des Hämoglobins. Ein Druck von 200 Torr Kohlenoxyd neben 200 Torr Sauerstoff verminderte die Wirkung von $1{,}5 \times 10^{-3}$ Äquivalent Verdiglobin $\times$ L^{-1} in 2×10^{-2} Mol Phenylhydroxylamin $\times$ L^{-1} bei p_H 5,8 von $3{,}8 \times 10^{-4}$ Mol $O_2 \times L^{-1}$ auf $2{,}2 \times 10^{-4}$ Mol $O_2 \times L^{-1}$ $\times$ min^{-1} und ein Kohlenoxyddruck von 400 Torr auf $1{,}3 \times 10^{-4}$ Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1}$.

Die Wirkung des *Hämins* mußte wegen dessen geringer Löslichkeit im Bereich von p_H 5—8 in alkalischer Lösung untersucht werden. Lösungen von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol

Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ ohne und mit 10^{-4} Mol Hämin $\times L^{-1}$ wurden unter Kontrolle mit der Glaselektrode auf p_H 10,6 eingestellt. In diesen Lösungen verlief die Sauerstoffaufnahme sehr schnell, nämlich ohne Zusatz von Hämin mit einer Geschwindigkeit von 8×10^{-3} Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1}$ und nach Zusatz von 10^{-3} Mol Hämin $\times L^{-1}$ mit einer Geschwindigkeit von 9×10^{-3} Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1}$. Das Hämin übertrug also 1 Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1} \times$ Hämin^{-1}. Seine katalytische Wirkung ist geringer als die des Hämoglobins, dessen Wirkung bereits bei p_H 8 1,8 Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1} \times$ Hämoglobin^{-1} beträgt (s. Abb. 3).

Protoporphyrin, dessen Wirkung ebenfalls in Lösungen vom p_H 10,6 untersucht wurde, beschleunigte die Sauerstoffaufnahme auch, aber noch weniger als Hämin. Seine Wirkung betrug in Lösung von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ und p_H 10,6 0,4 Mol $O_2 \times L^{-1} \times$ Protoporphyrin^{-1}. Die Wirkung des *Globins* war noch geringer.

7. Wirkung von Schwermetallen.

Geprüft wurde die Wirkung von Kupfer, Eisen, Kobalt und Nickel. Kupfer hatte von diesen die stärkste Wirkung, Eisen und Kobalt waren

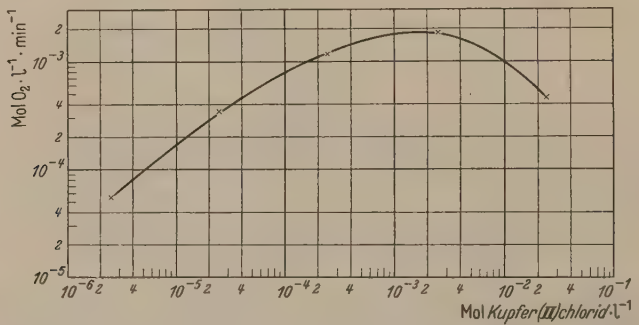


Abb. 6. Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme einer Lösung von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol Phenylhydroxylamin $\times L^{-1}$ von der Kupferkonzentration. Sauerstoffdruck 200 Torr, p_H = 5,8, Temp. 25° C.

nur wenig wirksam und Nickel gar nicht. (Wegen der geringen Löslichkeit ihrer Phosphate wurden die Wirkungen von Eisen, Kobalt und Nickel in Lösungen des Phenylhydroxylamins in Azetat vom p_H 5,0 untersucht. In Konzentrationen von $2{,}5 \times 10^{-4}$ Mol $\times L^{-1}$ hatten Eisen-III-Chlorid und Kobalt-II-sulfat eine Wirksamkeit von 0,1 Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1} \times Fe^{-1}$.

Die stärkere Wirkung des Kupfers wurde in ihrer Abhängigkeit von der Kupfer- und Phenylhydroxylaminkonzentration genauer gemessen. In einer Konzentration von $2{,}5 \times 10^{-4}$ Mol $\times L^{-1}$ war die Wirksamkeit von Kupfer-II-chlorid 5 Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1} \times Cu^{-1}$, also 50mal so groß wie die des Eisens und Kobalts. Das Kupfer war auch stärker wirksam als Hämoglobin, das unter gleichen Bedingungen nur eine Wirkung von 0,6 Mol $O_2 \times L^{-1} \times min^{-1} \times$ Äquivalent Hb^{-1} besitzt.

Bei konstanter Phenylhydroxylaminkonzentration von $2{,}1 \times 10^{-2}$ Mol $\times L^{-1}$ war die Wirkung des Kupfers seiner Konzentration nicht proportional. Mit dem Anstieg der Kupferkonzentration von $2{,}5 \times 10^{-6}$ Mol $\times L^{-1}$ auf $2{,}5 \times 10^{-4}$ Mol $\times L^{-1}$ nahm die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme nur auf den 20fachen Wert zu, erreichte bei einer Konzentration von $2{,}5 \times 10^{-3}$ Mol $\times L^{-1}$, bei der also Kupfer und Phenylhydroxylamin im Verhältnis 1:8 standen, ein Maximum, und nahm bei einer Konzentration von $2{,}5 \times 10^{-2}$ Mol $\times L^{-1}$ auf ein Viertel des Maximalwertes ab (Abb. 6).

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit bei konstanter niedriger Kupferkonzentration ($2{,}5 \times 10^{-5}$ Mol $\times L^{-1}$) von der Phenylhydroxylaminkonzentration ist in Abb. 7 dargestellt. Die Funktion entspricht annähernd einem Massengleichgewicht mit einer Konstanten von etwa 0,04.

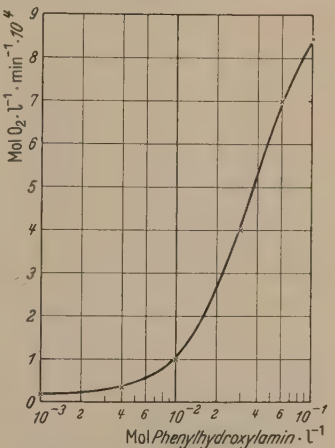


Abb. 7. Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen mit konstanter Kupferkonzentration ($2{,}5 \times 10^{-6}$ Mol $\times L^{-1}$) von der Phenylhydroxylaminkonzentration. Sauerstoffdruck 200 Torr, p_H = 5,8, Temp. 25° C.

Zusammenfassung.

Hämoglobin beschleunigt die Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen. Jedes Äquivalent Hämoglobin kann mehrere Mole Sauerstoff übertragen. Die Wirkung ist der Hämoglobinkonzentration und dem Logarithmus der Phenylhydroxylaminkonzentration proportional. Wasserstoffionen hemmen die katalytische Wirkung des Hämoglobins. Mit steigendem Sauerstoffdruck nimmt die Wirkung zu bis zu einem Druck von etwa 100 Torr. Durch höheren Sauerstoffdruck wird die Wirkung gehemmt. Kohlenoxyd hemmt die Wirkung nur schwach. Die Hämoglobinwirkung hat einen Temperaturkoeffizienten von $Q_{10} = 5{,}0$.

Hämiglobin wirkt in höheren Konzentrationen ebenso stark wie Hämoglobin. Verdoglobin NO_2 hat etwa die halbe Wirkungsstärke des Hämoglobins. Hämin wirkt wesentlich schwächer, und Protophyrin sowie Globin beschleunigen die Sauerstoffaufnahme nur sehr wenig.

Kupfer katalysiert die Sauerstoffaufnahme von Phenylhydroxylaminlösungen stärker als Hämoglobin. Seine Wirkung wird von der Kupfer- und Phenylhydroxylaminkonzentration in anderer Weise beeinflußt als die des Hämoglobins. Eisen und Kobalt wirken viel schwächer als Kupfer, und Nickel gar nicht.

Literatur.

[1] Heubner, W., R. Meier u. A. Rhode: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **100**, 149 (1923). — [2] Kiese, M., u. J. Reinwein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 402 (1950). — [3] Kiese, M., u. D. Reinwein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 392 (1950). — [4] Kiese, M.: Biochem. Z. **305**, 22 (1940). — [5] Bamberger, E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 1347 (1890). — Wohl, A.: Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 1432 (1890). — [6] Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 385 (1947). — [7] Havemann, R., F. Jung u. B. v. Issekutz, jr.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [8] Kiese, M.: Klin. Wschr. **1942**, 565. — [9] Fischer, H., u. H. Orth: Chemie des Pyrrols, Bd. 2, S. 377, Leipzig 1937. — [10] Fischer, H., u. H. Orth: Chemie des Pyrrols, Bd. 2, S. 399. — [11] Anson, L. M., and A. E. Mirsky: J. gen. Physiol. **13**, 469 (1930). — [12] Kiese, M., u. H. D. Waller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 345 (1950). — [13] Kiese, M., u. Kaeske: Biochem. Z. **312**, 121 (1942).

Prof. Dr. M. Kiese, Marburg/Lahn, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 139—153 (1951).

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel (Dir.: Prof. Dr. W. Bargmann)
und aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Dir.: Prof. Dr. B. Behrens).

Über das Vorkommen der Hypophysenhinterlappenhormone im Zwischenhirn*.

Von
Walther Hild und Gerhard Zetler.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Februar 1951.)

Einleitung und Fragestellung.

Die Frage der funktionellen Zusammengehörigkeit von Hypothalamus und Hypophyse ist in den letzten Jahren vielfach diskutiert worden. Nachdem Scharrer (1937) und seine Mitarbeiter schon vor vielen Jahren eine sekretorische Tätigkeit in den großzelligen Zwischenhirnkernen mit histologischen Methoden nachgewiesen hatten, erfuhr dieses Problem in neuerer Zeit durch die Untersuchungen von Bargmann (1949, 1950) und seiner Schule (Bargmann und Hild 1949, Bargmann, Hild, Ortmann und Schiebler 1950, Hild 1951a und b) besondere Förderung; konnte doch gezeigt werden, daß mit Hilfe der von Gomori (1941) ursprünglich für andere Zwecke angegebenen Chromalaunhämatoxylin-Phloxinfärbung im Zwischenhirn eine elektive Darstellung solcher Kerngebiete und Faserzüge möglich ist, die seit langem als das morphologische Substrat der funktionellen Verknüpfung von Hypothalamus und Hypophyse angesehen wurden. Die Darstellung dieses Systems, nämlich der Nuclei supraopticus und paraventricularis sowie des Tractus hypothalamo-hypophyseus und der Nervenfasergeflechte der Neurohypophyse beruht auf der elektiven Anfärbung einer granulären Substanz, die in den Ganglienzellen der erwähnten Kerngebiete gebildet und offenbar über die Ganglienzellfortsätze dem Hypophysenhinterlappen zugeführt wird.

Da seit Simon und Kardos (1934) bekannt ist, daß bei durstenden Kaninchen und Meerschweinchen eine bedeutende Verminderung des Gehalts der Neurohypophyse an uterus- und blutdruckwirksamer Substanz eintritt und nach Kuschinski und Liebert (1939) sowie Hickey, Hare und Hare (1941) ebenso eine Verminderung des Adiuretins ein-

* Mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, der wir für ihre Hilfe Dank sagen.

tritt, ist es von besonderem Interesse, daß unter gleichen Bedingungen auch die Menge des gomoripositiven Neurosekrets in Neurohypophyse und Zwischenhirnkernen abnimmt (Ortmann 1950; Hild 1951b; Kratzsch im Druck). Aus diesem gleichsinnigen Verhalten von

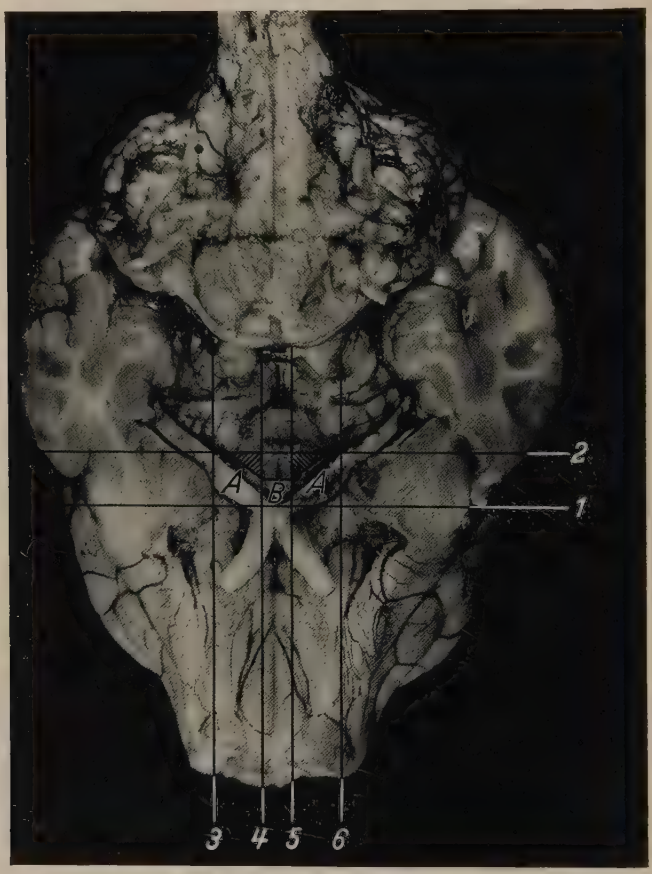


Abb. 1a. Ansicht der Hirnbasis des Hundes nach Abtragung der Hypophyse und der den Tractus opticus überdeckenden Schläfenlappen. Die Linien 1—6 zeigen die primären Schnittführungen. Erklärung im Text (Methodik).

Hormongehalt und Neurosekretgehalt des Hypophysenhinterlappens ließ sich ein enger Zusammenhang zwischen Hormonen und histologisch darstellbarem Neurosekret vermuten. Wenn dieser Zusammenhang wirklich bestehen sollte, dann müßten Adiuretin, Oxytocin und Vasopressin auch aus den gomoripositiven Zwischenhirnteilen extrahierbar sein. Da bisher Trendelenburg (1928) und Sato (1928) aus dem Tuber cinereum (hier wird der Tractus supraoptico-hypophyseus erfaßt)

Oxytocin und Vasopressin, Melville und Hare (1945) aus dem Nucleus supraopticus nur Adiuretin gewonnen hatten, stellten wir uns die Aufgabe, aus den gomoripositiven Zwischenhirngebieten und der Neurohypophyse von Hunden Extrakte herzustellen und auf den Gehalt an allen 3 Wirkstoffen zu prüfen.

Methodik.

28 männliche Schäferhunde bzw. Schäferhundmischlinge im Gewicht von 20—30 kg wurden durch intrakardiale Injektion von 15 cm³ gesättigter wäßriger

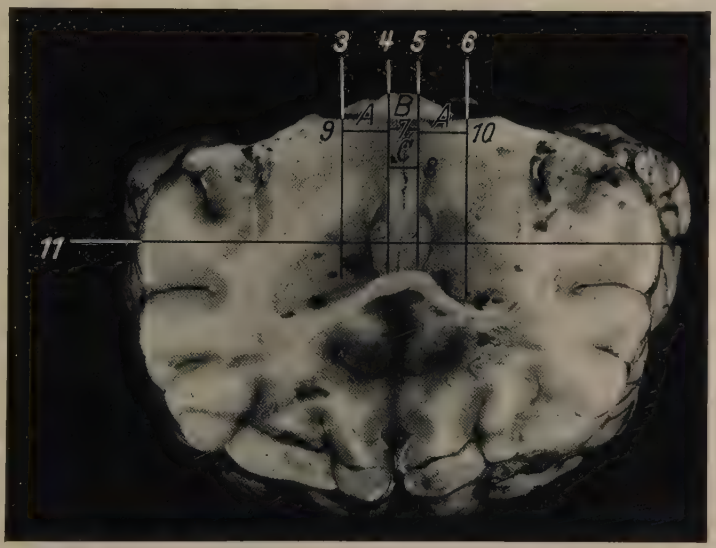


Abb. 1b. Ansicht der durch die Schnitte 1 und 2 (Abb. 1a) gewonnenen Gehirnscheibe von vorn. Die Linien 7—11 zeigen die sekundären Schnittführungen. Erklärung im Text (Methodik).

$MgSO^4$-Lösung getötet. Die unmittelbar nach Entblutung herauspräparierten Gehirne wurden bis zu einer Konsistenz gefroren, die das Präparieren von Kerngebieten mit der Rasierklinge erlaubte. Anschließend an die Abtrennung der Hypophyse wurden an der Gehirnbasis tiefe Schnitte gelegt, wie sie Abb. 1a zeigt. Unter den Feldern *A* liegen die Nuclei supraoptici, unter dem Feld *B* der Tractus hypothalamo-hypophyseus im Tuber cinereum. Nach Wegnahme der Gehirnsubstanz vor Linie 1 und hinter Linie 2 erhält man eine Gehirnscheibe, wie sie in Abb. 1b dargestellt ist. Aus dieser Scheibe ergeben sich durch die Schnittführungen 3, 4, 5, 6 (siehe auch Abb. 1a) und aus dem neuen Schnitt 11 drei rechteckige Säulen, aus denen man durch die Schnitte 7, 8, 9 und 10 die Felder *A* mit den Nuclei supraoptici, das Feld *B* mit dem Tractus supraoptico-hypophyseus und das Feld *C* mit den Nuclei paraventriculares erhält. Von den Blöcken *A* wurde noch die in Abb. 1a schraffierte Kante abgetragen und ebenso vom Block *B* das unbezeichnete Feld zwischen den schraffierten Kanten der Abb. 1a, also die Hinterwand des Infundibulums.

Zu Kontrollversuchen wurden die an die beschriebenen Blöcke unmittelbar angrenzenden Zwischenhirngebiete gesondert verarbeitet.

Sofort nach dieser Präparation wurden die Gewebsblöcke, die isolierte Neurohypophyse und das Kontrollmaterial nach der Methode von Heller und Zaimis (1949) weiterverarbeitet: Einlegen für 24 Stunden in 3mal gewechseltes Azeton mit anschließender Vakuumtrocknung. Dabei erhielten wir unter anderem folgende Trockengewichte (in Milligramm):

Tabelle 1.

Hund Nr.	HHL	Tuber cinereum	Nucleus supraopticus	Nucleus paraventricularis
18	4,0	12,8	89,5	19,8
19	3,7	16,0	88,0	22,8
20	2,9	17,9	95,5	24,6
26	2,7	21,8	95,3	23,9
27	2,9	11,3	95,3	36,3
28	3,7	16,0	108,0	19,1
29	3,3	13,5	91,0	18,4
30	2,7	15,5	84,3	15,9
31	3,7	13,6	122,0	14,0
32	3,5	13,3	84,8	18,9
33	3,6	13,7	87,0	17,9
Mittel:	3,3	15,0	94,5	21,2

Das auffallend hohe Gewicht der Supraopticuspartien erklärt sich durch die Miterfassung des Tractus opticus, den wir deshalb nicht abtrennten, weil unmittelbar über ihm der Nucleus supraopticus liegt.

Die getrockneten und pulverisierten Gewebsblöcke extrahierten wir mittels 0,25%iger Essigsäure in physiologischer Kochsalzlösung durch 3 min langes Kochen. Die Extraktionslösungen wurden filtriert, auf gleiches Volumen aufgefüllt und danach sofort auf ihren Hormongehalt untersucht.

Die Prüfung auf Adiuretin erfolgte nach Burn (1937) an Ratten gegen „Pituglandol“[1], auf Vasopressin am Blutdruck der dekapitierten Katze gegen „Tonephin“[2] (die Dekapitation wurde nach der Methode von Behrens und Taeger (1935) mit Hilfe des Ecraseurs de Chassaignac vorgenommen). Den Oxytocingehalt der Extrakte ermittelten wir nicht auf die herkömmliche Weise am isolierten Uterus des virginellen Meerschweinchens (Dale und Laidlaw 1912), sondern mittels einer am Kieler Pharmakologischen Institut entwickelten Methode am Uterus der weißen Maus ebenfalls gegen „Pituglandol“[1]; die Methode bewährte sich seitdem bei zahlreichen routinemäßigen Hormonauswertungen, weshalb wir sie auch für den vorliegenden Zweck anwandten. Da diese Arbeitsweise bisher nur in Form einer Dissertation (Henningsen 1949) veröffentlicht ist, seien einige Worte darüber erlaubt, zumal sie inzwischen modifiziert wurde.

Zur Verwendung gelangen die isolierten Uteri erwachsener weißer Mäuse, etwa 4—6 Wochen nachdem sie geboren haben; der Uterus ist also voll ausgereift. Während der isolierte Uterus des virginellen Meerschweinchens sich von allein nicht kontrahiert, zeigt der erwachsene Mäuseuterus kräftige, außerordentlich regelmäßige Spontankontraktionen. Die Meerschweinchenmethode vergleicht nun

[1] „Pituglandol“: Hypophysenhinterlappenextrakt der Firma Hoffmann-La Roche, dessen Hormongehalt gegen das internationale Standardpräparat eingestellt war.

[2] „Tonephin“: Vasopressinpräparat der Höchster Farbwerke.

die Höhen der Kontraktionen, die von den zu testenden Präparaten ausgelöst werden, miteinander; eine Auswertung wird dadurch möglich, daß das Ausmaß der Kontraktionen den Oxytocindosen in gewissen Grenzen proportional ist. Ein solches Vorgehen ist beim erwachsenen Uterus der weißen Maus nicht möglich, da seine Kontraktionen immer maximal sind. Stellt man jedoch den spontanarbeitenden Uterus durch eine ausreichende $MgSO_4$-Dosis völlig ruhig, so ist bei Beachtung weniger Kautelen die Zeit vom Zusatz des Oxytocins zur Badeflüssigkeit bis zum Auftreten der Kontraktion von der Oxytocindosis abhängig. Da auch unter diesen Umständen immer nur maximale Kontraktionen auftreten, tauchte der Gedanke auf, der biologische Unterschied zwischen beiden Methoden liege darin, daß die ausgereiften Muskelfasern des erwachsenen Uterus nur nach dem „Alles-oder-Nichts-Gesetz" auf Oxytocin antworten können, während die unausgereifte Uterusmuskulatur wegen des unterschiedlichen Reifegrades der einzelnen Muskelfasern sich nach einer geringeren Oxytocindosis schwach und nach einer höheren Dosis stärker verkürzt.

Etwa 2 Std nach der Suspendierung des Uterus in Ringer-Lösung setzt man der Badeflüssigkeit in kleinen Dosen soviel einer 25%igen $MgSO_4$-Lösung zu, bis die Spontankontraktionen mit Sicherheit 5 min lang ausbleiben. Nach Feststellung dieser Dosis richtet man sich nach folgendem Schema: Zufügung der erprobten $MgSO_4$Dosis — 3 min Warten — Zufügen der Extraktprobe und Stoppen der Zeit, die bis zur ersten maximalen Kontraktion vergeht. Ursprünglich wurden von Standard und vom Testpräparat Dosiswirkungskurven hergestellt und der gesuchte Wert durch Interpolation gefunden. Nunmehr gehen wir so vor, daß ähnlich wie bei der Meerschweinchenmethode abwechselnd beide Präparate in variierter Dosierung solange gegeben werden, bis weitgehende Übereinstimmung der beiden gestoppten Zeitwerte auftritt; diese beiden Proben enthalten dann gleichviel Oxytocin. Zu Beginn einer solchen Auswertung muß man die Ansprechbarkeit jedes Uterus erst ausprobieren; sie kann sich später plötzlich nicht unbeträchtlich ändern, was rechtzeitig bemerkt werden muß. Bei einiger Übung ist es möglich, mit einem Uterushorn stundenlang zu arbeiten und in einem Versuchsgang etwa 4 Präparate an einem Nachmittag zu testen. Die Meerschweinchenmethode benötigt für ein Präparat 1—2 Tage mit einem Fehler von 7,7% (Gaddum 1938) bis 20% (Burn 1937); der Fehler der Mäusemethode liegt nach unseren bisherigen Beobachtungen bedeutend niedriger.

Die histologischen Untersuchungen der neurosekretorischen Kerngebiete und der Neurohypophyse wurden mittels der Gomorischen Chromalaunhämatoxylin-Phloxinmethode vorgenommen. Methodik siehe bei Bargmann, Hild, Ortmann und Schiebler (1950) und Bargmann (1950).

Bei der statistischen Beurteilung der Versuchsergebnisse verwandten wir die t-Methode von Student (Hosemann; Weber 1949). Den mittleren Fehler des Mittelwertes bezeichneten wir mit ε, den mittleren Fehler der Einzelbeobachtung („Streuung") mit σ; die für die Errechnung dieser Werte angewandten Formeln finden sich bei Burn (1937).

Versuchsergebnisse.

Ausgehend von den morphologischen Untersuchungen von Bargmann (1949), Hild (1950, 1951a und b), Ortmann (1950) u. a., nach denen in der Neurohypophyse, im Tractus supraoptico-hypophyseus und in den Nuclei supraopticus und paraventricularis eine färberisch elektiv darstellbare Substanz vorhanden ist, die in engem Zusammenhang mit den sogenannten Hinterlappenhormonen steht, soll zunächst

eine kurze summarische Zusammenstellung dieser Verhältnisse gegeben werden. In den Ganglienzellen der erwähnten Kerngebiete lassen sich wechselnde Mengen von Granulis darstellen, die sich auch in die Axone

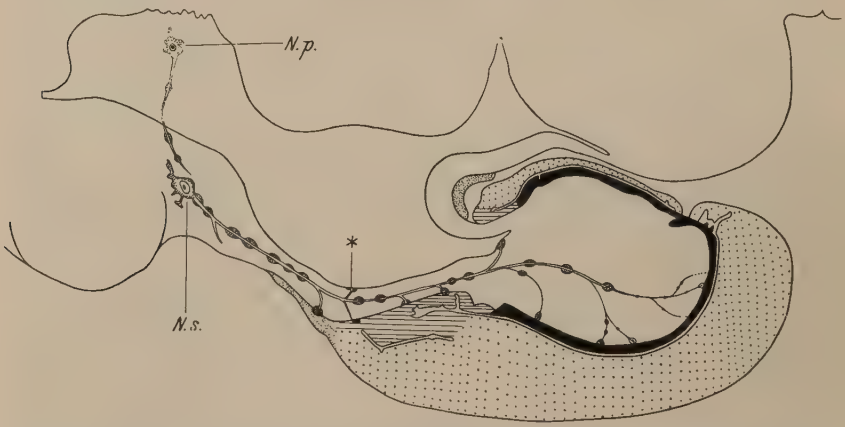


Abb. 2. Schematische Darstellung des neurosekretorischen hypothalamisch-hypophysären Systems beim Hund (medianer Sagittalschnitt, in Anlehnung an eine Abbildung von Romeis) aus Bargmann Z. Zellf. *34* (1949). *N. p.* Nucleus paraventricularis. — *N. s.* Nucleus supraopticus mit dem Tractus supraoptico-hypophyseus, der sich in der Neurohypophyse aufzweigt. — * Sekret unmittelbar unter dem Ependym. Punktiert Vorderlappen, schwarz Pars intermedia.

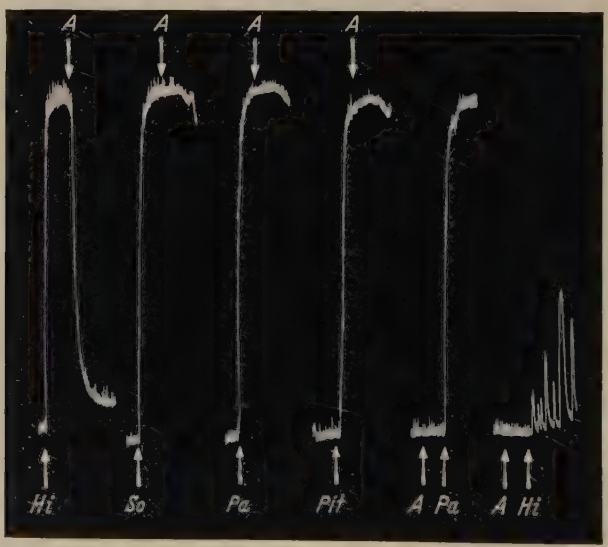


Abb. 3. Oxytocische Wirkung der Extrakte aus Nucleus supraopticus und paraventricularis von Hund 12 am Uterus des virginellen Meerschweinchens. Badeflüssigkeit 40 cm³ Ringer-Lösung. *Hi* Histaminchlorhydrat 0,1 cm³ einer 0,001 mol. Lösung. — *A* Antistin 0,1 cm³ einer 0,001 mol. Lösung. — *So* Extrakt entsprechend dem 0,0125ten Teil des Nucleus supraopticus. — *Pa* Extrakt entsprechend dem 0,0125ten Teil des Nucleus paraventricularis. — *Pit* Pituglandol 0,003 VE.

dieser Ganglienzellen fortsetzen und in den Nervenfasergeflechten der Neurohypophyse ebenfalls nachweisbar sind (Abb. 2). Diese granuläre Substanz entsteht mit Wahrscheinlichkeit in den Ganglienzellen und wird über die Axone zur Neurohypophyse abgeführt, wo eine Speicherung stattfindet. Nach den bisherigen Arbeiten der Bargmannschen Schule scheint es sich zumindest um eine Art Trägersubstanz der Hypophysenhinterlappenhormone zu handeln. Nach der Hypothese Bargmanns

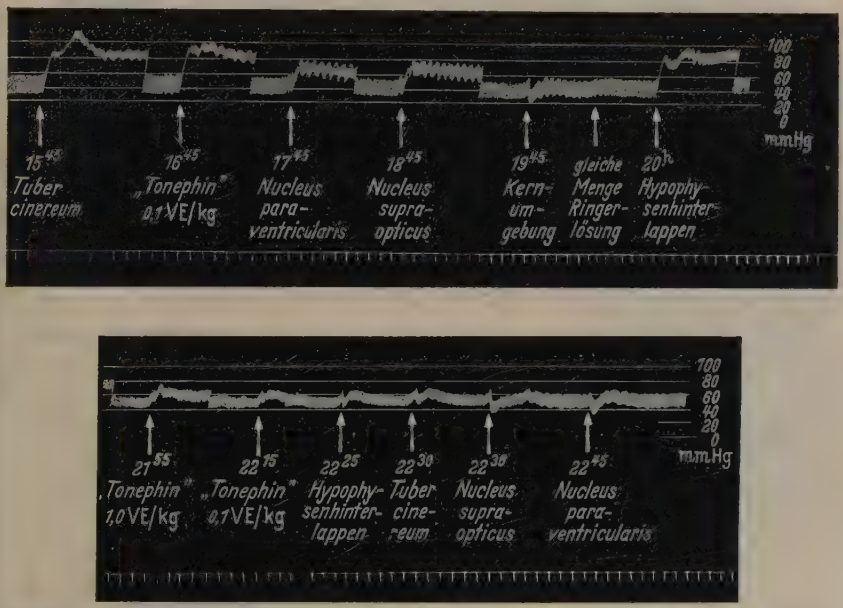


Abb. 4a und b. Blutdruck der dekapitierten Katze (1,5 kg); Registrierung mit Gummimembran-Manometer; Zeitschreibung in Minuten. Extrakte von Hund 31. — Tuber cinereum: $^1/_8$ der gesamten Tub. cin.-Extraktmenge. — Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis: je $^1/_4$ Kern. — Kernumgebung Trockengewichtsäquivalent zu der verabreichten Nucl. supraopt.-Extraktmenge (15,2 mg). — Hypophysenhinterlappen: $^1/_{200}$ des HHL-Extraktes. — Bild b zeigt die stark verminderte Blutdruckwirksamkeit derselben Kernextrakte bei Tachyphylaxie der gleichen Katze gegen Vasopressin (erreicht nach Injektion von insgesamt 4,5 VE/kg Tonephin innerhalb von 60 min).

und seiner Mitarbeiter (Hild 1951b) dürften die Hinterlappenhormone nicht im Hypophysenhinterlappen, sondern in den neurosekretorisch tätigen Zwischenhirnkernen gebildet werden. Der Hinterlappen wäre also lediglich als Speicherungs- und Ausscheidungsort anzusehen. Im Sinne dieser Hypothese ist zu fordern, daß die 3 Hormone auch in den in Frage kommenden Zwischenhirnpartien gefunden werden können, wenn auch daraus nicht auf den tatsächlichen Bildungsort geschlossen werden kann.

Wie bereits Vorversuche zeigten (Hild und Zetler 1951), ist dies tatsächlich der Fall. Es galt nun die gefundenen Wirkungen als Hormon-

wirkungen zu spezifizieren. Es ist bekannt, daß das Erscheinungsbild der oxytocischen Wirkung auch durch Histamin hervorgerufen werden

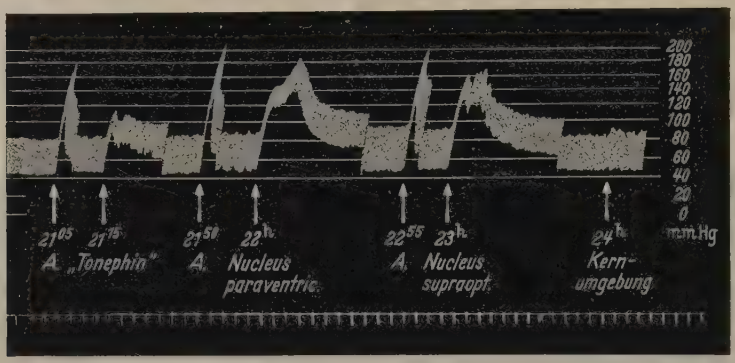


Abb. 5. Blutdruck der dekapitierten Katze (2,5 kg); Registrierung mit Gummimembran-Manometer; Zeitschreibung in Minuten. Extrakte von Hund 33. *A* Adrenalin 1 γ/kg. — „Tonephin": 0,1 VE/kg. — Nucleus paraventricularis: Extrakt aus einem ganzen Kern. — Nucleus supraopticus: Extrakt aus einem halben Kern. — Kernumgebung: Extrakt aus der nächsten Umgebung beider Kerne (gleiche Trockensubstanzmenge wie Nucleus paraventricularis, nämlich 8,8 mg).

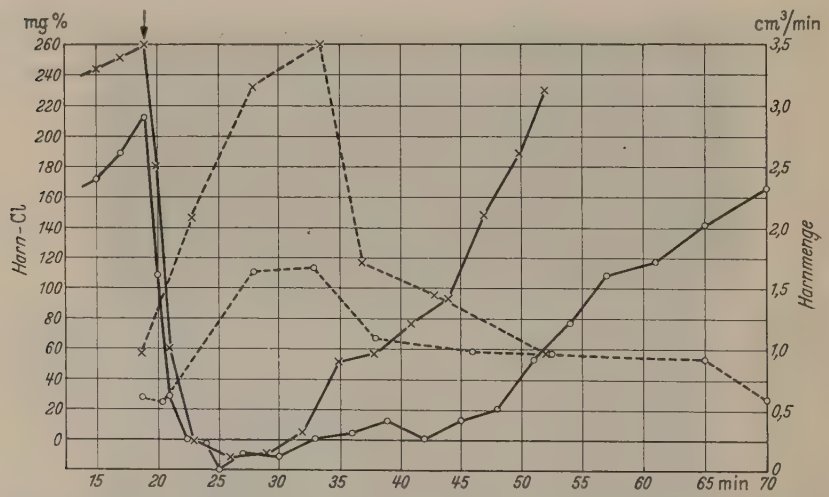


Abb. 6. Prüfung der antidiuretischen und chloridkonzentrierenden Wirkung der Kernextrakte am Blasenfistelhund Fiffi (6,7 kg ♂) nach Stehle (1934). 2 Std vor Versuchsbeginn 100 cm³ Wasser per Schlundsonde, zum Versuch 300 cm³ Wasser per Schlundsonde. Bei einer Diurese von 2—3 cm³ Harn/min. intravenöse Injektion der Extrakte in einer Dosis entsprechend dem $4{,}0 \cdot 10^{-5}$ten Teil des jeweiligen Kerns (↓).

−+———+− Harnmenge in cm³/min
−−+- - - - - -+−− Chloridkonzentration in mg% } (Nucleus supraopticus).
− O ——— O − Harnmenge in cm³/min
− − O - - - - - - O − − Chloridkonzentration in mg% } (Nucleus paraventricularis).

kann, zumal da Cicardo und Stoppani (1949) erst vor kurzem wieder darauf hinwiesen, daß Histamin in Extrakten des Zentralnervensystems weitverbreitet ist. Es ließ sich aber am isolierten Uterus des virginellen

Meerschweinchens, der gegenüber Histamin sehr sensibel ist, unter Anwendung von Antistin zeigen, daß unsere Extrakte kein Histamin enthielten (Abb. 3); während die Histaminkontraktion erwartungsgemäß von Antistin antagonistisch beeinflußt wurde, blieben die Kernextrakte normal wirksam.

Auch das Vasopressin mußte identifiziert werden, da in neuerer Zeit auch andersartige, sympathikomimetische Stoffe im Gehirn nachgewiesen werden konnten (Raab 1948, Holtz 1950), die den Blutdruck steigern. Es mußten von unseren Extrakten also Wirkungen verlangt werden, die für Vasopressin typisch sind, d. h. Darmwirksamkeit und Blutdruckwirksamkeit, die in einer charakteristischen langdauernden Hebung des Blutdruckniveaus besteht (Plateaubildung) und die nach Eintritt von Vasopressintachyphylaxie nicht mehr in Erscheinung tritt. In der Tat wirkten unsere Extrakte auf isolierte Darmstücke kontrahierend und zeigten hinsichtlich der Blutdruckwirksamkeit die Charakteristika des Vasopressins (Abb. 4a, b). Die Extrakte von Holtz riefen eine gänzlich andere Art der Blutdrucksteigerung hervor, die auf ihren Gehalt an Adrenalin und Arterenol zurückgeführt werden muß. Außerdem waren unsere Extrakte wesentlich wirksamer als die von Holtz, wie das Beispiel der Abb. 5 zeigt. Die hierbei angewandten Dosen unserer Extrakte hatten etwa gleiche Wirkung wie 1 γ/kg Adrenalin; Holtz benötigte 40 g Frischgehirn, um eine Wirkung hervorzurufen, die etwa 1 γ/kg Adrenalin äquivalent ist. Nimmt man an, daß durch unser Trocknungsverfahren mit Aceton ein Gewichtsverlust von etwa 80% zustande gekommen sei, so benötigten wir für die Blutdrucksteigerung des Paraventricularisextraktes in Abb. 5 etwa 0,045 g frischer Zwischenhirnsubstanz und für die Wirkung des Supraopticusextraktes etwa 0,1 g frischer Substanz.

Abb. 7. Isolierter Uterus des virginellen Meerschweinchens in 30 cm³ Tyrodelösung (mit 0,25 $MgCl_2$). *A* vordere, *B* hintere Umgebung der untersuchten Zwischenhirnkerne. — *C* Nuclei supraoptici der Hunde 18, 19, 20, 26 (Mischextrakt). Von diesen 3 Extrakten wurde jeweils die Menge dem Bade zugefügt, die 0,196 mg der Trockensubstanz entsprach.

Vom Adiuretin muß erwartet werden, daß es die Harnflut drosselt und gleichzeitig die Salzkonzentration des Harns steigert. Abb. 6 zeigt an Hand eines Versuches am Blasenfistelhund Fiffi, daß schon sehr geringe Dosen von Kernextrakt diese typische Wirkung hervorrufen. Somit glauben wir behaupten zu können, daß die gefundenen Extraktwirkungen tatsächlich auf dem Gehalt der Auszüge an Adiuretin, Oxytocin und Vasopressin beruhen.

Es mußte aber noch gefordert werden, daß nur die bezeichneten Gebiete selbst und nicht etwa auch das benachbarte Gewebe hormonhaltig seien. Abb. 4, 5 und 7 demonstrieren die Wirkungslosigkeit von Extrakten aus der nächsten Umgebung der untersuchten Kerngebiete; diese Extrakte zeigten auch weder antidiuretische noch Darmwirksamkeit.

Tabelle 2.

Hund Nr.	HHL	Tuber cinereum	Nuclei supraoptici	Nuclei paraventriculares
7	4,00	0,10	0,50	0,25
9	6,50	0,29	0,50	0,22
10	7,00	0,40	0,33	0,06
13	4,00	0,12	0,30	0,04
14	9,60	0,20	0,32	0,08
15	9,00	0,26	0,32	0,09
16	6,80	0,14	0,34	0,05
17	5,20	0,09	0,40	0,04
32	7,60	0,30	0,44	0,10
33	6,70	0,17	0,33	0,08
Mittel:	6,64	0,21	0,36	0,10
$\pm \sigma$:	1,87 (28,2%)	0,103 (49,0%)	0,067 (24,0%)	0,074 (74,0%)
$\pm \varepsilon$:	0,59 (8,9%)	0,032 (15,2%)	0,021 (7,6%)	0,0234 (23,4%)

Die Ergebnisse der quantitativen Hormonauswertungen spiegeln die nachfolgenden Tab. 2 und 3, in denen — wie auch in Tab. 4 und 5 — die Hormonmengen (in Voegtlin-Einheiten) nicht auf die Gewichte der extrahierten Gehirnteile, sondern auf die bezeichneten Organe als

Tabelle 3.

Hund Nr.	HHL	Tuber cinereum	Nuclei supraoptici	Nuclei paraventriculares
18	20,08	1,33	0,88	0,25
19	19,30	1,33	0,80	0,26
20	18,60	1,36	0,88	0,27
26	15,50	1,30	0,96	0,31
27	18,75	1,25	1,17	0,73
28	22,30	0,68	0,95	0,79
29	20,00	1,38	0,95	1,09
30	20,90	1,28	1,83	0,875
32	25,00	2,20	1,68	1,05
33	19,40	1,33	1,15	0,78
Mittel:	19,98	1,34	1,13	0,64
$\pm \sigma$:	2,488 (12,5%)	0,336 (27,4%)	0,353 (31,3%)	0,336 (52,5%)
$\pm \varepsilon$:	0,787 (3,94%)	0,116 (8,7%)	0,112 (9,8%)	0,106 (16,5%)

solche bezogen sind, da die wahren Gewichte der untersuchten Kerngebiete unbekannt sind. Tab. 2 unterrichtet über den Oxytocingehalt der 4 untersuchten Hirnteile bei den einzelnen Hunden.

Tab. 3 betrifft den Vasopressingehalt der Extrakte in VOEGTLIN-Einheiten.

Aus technischen Gründen untersuchten wir den Adiuretingehalt der Extrakte nicht für jedes einzelne Tier allein, sondern als jeweiligen Mischextrakt aus den entsprechenden Organteilen von je 4 Tieren; diese Untersuchung wurde 2mal, also bei insgesamt 8 Tieren (deren Vasopressingehalt siehe Tab. 3) durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tab. 4 (in VOEGTLIN-Einheiten).

Tabelle 4.

Hund Nr.	HHL	Tuber cinereum	Nuclei supraoptici	Nuclei paraventriculares
18, 19, 20, 26	13,40	0,99	0,49	0,29
27, 28, 29, 30	14,36	1,60	0,73	0,33
Mittel	13,88	1,24	0,61	0,31

Einen zusammenfassenden Überblick über unsere quantitativen Befunde gibt die folgende Tab. 5 (in VOEGTLIN-Einheiten). Es handelt sich dabei um dieselben Individuen wie in Tab. 3 und 4, wobei diesmal das Oxytocin aus den gleichen Mischextrakten wie das Adiuretin in Tab. 4 getestet wurde. Diese Tabelle stellt also Mittelwerte aus insgesamt 8 Hunden (18, 19, 20, 26, 27, 28, 29 und 30) dar.

Tabelle 5.

	HHL	Tuber cinereum	Nuclei supraoptici	Nuclei paraventriculares
Adiuretin	13,88	1,48	0,61	0,31
Oxytocin.	6,45	0,187	0,325	0,055
Vasopressin	19,44	1,24	1,05	0,75

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Durch unsere Versuchsergebnisse dürfte eindeutig erwiesen sein, daß die Hormone, Adiuretin, Oxytocin und Vasopressin nicht nur im Hypophysenhinterlappen, sondern auch im Zwischenhirn vorkommen, und zwar streng beschränkt auf die Nuclei supraopticus und paraventricularis und auf die neurosekretorische Bahn (Tractus supraoptico-hypophyseus) im Tuber cinereum, während die unmittelbar an die Kerne angrenzenden Zwischenhirngebiete völlig hormonfrei sind. Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß die Wirkstoffe immer vergesellschaftet aufgefunden wurden; dadurch werden die Befunde von

Trendelenburg (1928) und Sato (1928) (Oxytocin und Vasopressin im Tuber cinereum) sowie von Melville und Hare (1945) (Adiuretin im Nucleus supraopticus) vervollständigt. Unsere Befunde sprechen ganz klar gegen die Mitteilung von Hölscher und Finger (1949) „Über das Fehlen des diuresehemmenden Prinzips im Zentralnervensystem"; diese Autoren fahndeten einerseits nur nach Adiuretin, andererseits mag ihre komplizierte Extraktionsmethodik zu Fehlergebnissen geführt haben.

Hinsichtlich der quantitativen Beziehungen der 3 Wirkstoffe zueinander erlaubt das vorliegende Material zunächst keine weitreichenden Schlüsse. Wir möchten jedoch hervorheben, daß der auffallende Unterschied zwischen den Vasopressin- und Oxytocinmengen in allen untersuchten Hirnteilen für eine statistische Sicherheitsgrenze von 0,27% ($3\,\sigma$-Regel) signifikant ist[1]. Es sei betont, daß der Nucleus paraventricularis bedeutend kleiner ist als der Nucleus supraopticus, woraus sich die unterschiedlichen Hormonmengen in den beiden Kernen ohne weiteres erklären. Wie aus dem histologischen Schnittpräparat hervorgeht, enthält die Neurohypophyse die größten Mengen an färberisch darstellbarem Neurosekret, was mit unserer Anschauung über den Speichercharakter des Hinterlappens und der großen Hormonmenge in ihm völlig übereinstimmt. Angesichts des hohen Hormongehaltes des Tractus supraoptico-hypophyseus im Tuber cinereum ist zu bedenken, daß bei der Präparation des Tuber cinereum die Eminentia mediana miterfaßt wurde, die dasselbe morphologische Bild wie der Hypophysenhinterlappen bietet und ebenso wie dieser als Hormonspeicher aufzufassen ist. Außerdem enthält der Tractus supraoptico-hypophyseus eine große Zahl von Herringkörpern, die als neurosekrethaltige Auftreibungen der marklosen Nervenfasern aufzufassen sind.

Da aus den experimentell-morphologischen Untersuchungen (Hypophysenstieldurchschneidung beim Frosch) von Hild (1951) hervorgeht, daß das Neurosekret in den Ganglienzellen gebildet wird und da Neurosekret und „Hypophysenhinterlappenhormone" immer zusammen auftreten, kann gefolgert werden, daß die Hormone ebenso wie das Neurosekret in den Ganglienzellen der Nuclei supraopticus und paraventricularis gebildet werden. Wenn dies richtig ist — was aus unseren Befunden mit absoluter Sicherheit allerdings noch nicht abgeleitet werden kann — dann eröffnen sich ganz neue Perspektiven über die funktionellen Leistungen von Ganglienzellen. Dazu wäre allerdings erst der direkte Beweis für die ausschließliche Bildung der „Hypophysenhinterlappenhormone" im Zwischenhirn nötig; diesen Beweis hoffen wir durch Versuche erbringen zu können, die bereits im Gange sind.

[1] Ähnliche Verhältnisse fanden Kuschinski und Liebert (1939) für den HHL normaler Ratten: 0,9 VE/mg Adiuretin und 0,4—0,5 VE/mg Oxytocin.

Daß das gomoripositive Neurosekret mit den Hinterlappenhormonen nicht identisch, sondern mit Wahrscheinlichkeit nur als deren Trägersubstanz aufzufassen ist, schließen wir aus den Versuchergebnissen Hilds (1951 a), der nachweisen konnte, daß man aus frischem Hinterlappengewebe das Neurosekret mit absolutem Alkohol extrahieren kann. Im histologischen Präparat einer solchen mit Alkohol vorbehandelten Hypophyse ist das Neurosekret dann nicht mehr nachweisbar, jedoch kann es im Rückstand des abgedampften Alkohols färberisch dargestellt werden. Arbeitet man jedoch eine Neurohypophyse, die mittels Alkohol von färberisch darstellbarem Neurosekret befreit ist, pharmakologisch in der geschilderten Methode (siehe Abschnitt Methodik) auf, so lassen sich in den Extrakten Adiuretin, Oxytocin und Vasopressin nachweisen. Zwar ist auch der Rückstand aus dem abgedampften Alkohol hormonal wirksam, jedoch nur in ganz geringem Grade. Offenbar ist bei der Herauslösung der Trägersubstanz eine geringere Menge von Hormonen mitgerissen worden. Nach Fixierung in nicht alkoholhaltigen Fixationsmitteln geht die Löslichkeit des gomoripositiven Neurosekrets in Alkohol verloren.

Die Tatsache des Vorkommens der 3 Hinterlappenwirkstoffe in den großzelligen Zwischenhirnkernen scheint uns eine wichtige Handhabe und ein Schlüssel für die Deutung der außerordentlich zahlreichen und eindrucksvollen Experimente und klinischen Beobachtungen verschiedener Autoren zu sein. So z. B. ist nach Ingram, Ladd und Benbow (1939) u. a. eine intakte Verbindung von Hypophyse und Hypothalamus die Voraussetzung für den regulatorischen Einfluß des Hinterlappens auf den Wasserhaushalt; andererseits sind klinische Beobachtungen bekannt geworden, wonach trotz völliger Zerstörung des Hinterlappens kein Diabetes insipidus auftrat, wie auch Walker (1939) auf Grund von Tierversuchen die zentrale Bedeutung der Neurohypophyse für die Regulation des Wasserhaushaltes bezweifelt. Es sei auch auf die Befunde von Trendelenburg (1928) und Sato (1928) hingewiesen, die nach Durchtrennung des Hypophysenstiels im Tuber cinereum einen vermehrten Gehalt an Oxytocin und Adiuretin fanden, eine Tatsache, die schon für sich im Sinne einer Entstehung der Hormone im Zwischenhirn ausgewertet werden könnte. Das morphologische Gegenstück zu diesen endokrinologischen Befunden stellen die Stieldurchschneidungsversuche von Hild (1951 b) an Fröschen dar; hierbei zeigte sich nach der Durchtrennung ein vermehrter Gehalt von Neurosekret im zentralen Stumpf des Tractus hypothalamo-hypophyseus.

An sezernierenden Zellen müssen nach den Erfahrungen der Histologie ganz spezifische und für eine sekretorische Tätigkeit typische morphologische Befunde erhoben werden können, durch die sich die betreffende Zelle als sezernierend erweist. Solche Charakteristika konnten jedoch bisher an der Spezialglia der Neurohypophyse, den Pituizyten, nicht zweifelsfrei gefunden werden. Auch die Beobachtungen an Gewebskulturen des Hinterlappens von Geiling und Lewis (1935) dürften wohl kaum für die Bildung der 3 Wirkstoffe in der Neurohypophyse selbst sprechen, da bei der von uns angenommenen Speicherfunktion des Hinterlappens[1] gleichzeitig mit der Auspflanzung des Hinterlappengewebes die gespeicherten Hormone mit in das Kulturmedium übertragen wurden. Eine Nachprüfung dieser Ergebnisse wäre trotzdem wünschenswert. Dagegen lassen die Bilder der Ganglienzellen aus den

[1] Fußnote S. 152.

Nuclei supraopticus und paraventricularis sehr wohl auf eine sekretorische Tätigkeit schließen. Den Pituizyten scheint nach den Untersuchungen von Hild (1951b) lediglich eine Aufgabe bei der Ausschwemmung des Neurosekrets und damit der Hinterlappenhormone in den Kreislauf zuzukommen. Es dürfte also nach einem Vorschlag Bargmanns (im Druck) gerechtfertigt sein, nicht von „Hypophysenhinterlappen-", sondern von „Hypothalamushormonen" zu sprechen.

Zusammenfassung.

Bei Hunden wurden in der Neurohypophyse, dem Tuber cinereum und den Nuclei supraopticus und paraventricularis die Hypophysenhinterlappenwirkstoffe Adiuretin, Oxytocin und Vasopressin nachgewiesen. Diese Hormone sind nur an den Fundstellen elektiv darstellbaren Neurosekrets nachweisbar. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß die 3 sogenannten Hinterlappenhormone nicht in der Neurohypophyse, sondern in den Nuclei supraopticus und paraventricularis im vorderen Hypothalamus gebildet werden.

Literatur.

Bargmann, W.: Z. Zellforschg. **34** (1949). — Klin. Wschr. **27** (1949). Anat. Nachr. **I** (1950). — Mikroskopie (Wien) **5** (1950). — Med. Monatsschr. (im Druck). — Bargmann, W., und W. Hild: Acta Anatomica **8** (1949). — Bargmann, W., W. Hild, R. Ortmann und Th. H. Schiebler: Acta Neuroveget. **I** (1950). — Behrens, B., u. H. Taeger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **178** (1935). — Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden, Berlin 1937. — Cicardo, V. H., und A. O. M. Stoppani: Nature **163** (1949). — Dale, H. H., und P. P. Laidlaw: J. of Pharmacol. **4** (1912). — Gaddum, J. H.: Quart. J. Pharmacy **11** (1938). — Geiling, E. M. K., und M. R. Lewis: Amer. J. Physiol. **113** (1935). — Gomori: Amer. J. Path. **17** (1941). — Hickey, Hare und Hare: Anat. Rec. **81** (1941). — Heller, H., und E. J. Zaimis: J. of Physiol. **109** (1949). — Henningsen, H.: Diss. Kiel 1949. — Hild, W.: Z. Zellforschg. **35** (1950). — Z. Anat. **151** (1951a). — Virchows Arch. **319** (1951b). — Hild, W., und G. Zetler: Experientia (im Druck). — Hölscher, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206** (1949). — Hölscher, B., u. J. Finger: Arch. f. Psychiatr. **181** (1949). — Holtz, P.: Acta physiol. scand. **20** (1950). — Hosemann, H.: Die Grundlagen der statistischen

[1] Wir möchten uns an dieser Stelle gegen die von Otto Hauswirth (Wien) im „Vorläufigen Kurzbericht von der Tagung zur Besprechung neurovegetativer Probleme auf Schloß Burg an der Wupper vom 15. — 18. September 1950" (Acta Neuroveget. I, 642 [1950]) gegebene irreführende Berichterstattung über die Ausführungen des einen von uns (Hild) über die geschilderten Ergebnisse verwahren. Hauswirth schreibt, wir faßten den HHL „nur als Verstärker" auf. Es erscheint uns unklar, was der Referent damit meint; wir haben diesen uns unverständlichen Begriff nie gebraucht. Nach unserer Auffassung ist der HHL nicht Bildungs-, sondern Speicherungs- und Ausscheidungsort der Hormone.

Auch über das Schlußwort von Schiebler (Anat. Inst. Kiel) berichtet Hauswirth falsch, da Schiebler nicht behauptet hat, die gomoripositive Neurosekretion sei Ausdruck einer „physiologischen Degeneration" der Neurone. Dieser Begriff wird von der Bargmannschen Schule strikt abgelehnt.

Methoden für Mediziner und Biologen, Stuttgart 1949. — Ingram, W. R., L. Ladd und J. T. Benbow: Amer. J. Physiol. **127** (1939). — Kratzsch, E.: Z. Zellforschg. (im Druck). — Kuschinski. G., und P. Liebert: Klin. Wschr. **18**, 823 (1939). — Melville, E. V., und Hare: Endocrinology **36** (1945). — Ortmann, R.: Klin. Wschr. **28** (1950). — Z. Zellforschg. **36**, 92, (1951). — Raab, W.: Amer. J. Physiol. **152** (1948). — Sato, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **131** (1928). — Scharrer, E.: Z. Anat. **106** (1937). — Stehle, R. L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175** (1934). — Simon, A., u. Z. Kardos: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176** (1934). — Trendelenburg, P.: Klin. Wschr. **7** (1928). — Walker, A. M.: Amer. J. Physiol. **127** (1939).

Dr. med. Walther Hild,
Anatomisches Institut der Universität Kiel, Neue Universität (Elac), Haus 30.

Dr. med. Gerhard Zetler,
Pharmakologisches Institut der Universität Kiel, Hospitalstraße 20.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 154—161 (1951).

Aus Fellows Pharmaceutical Laboratories, New York 14. N. Y.

Die Wirkung von Cytochrom, Adenosin-5-monophosphat, Adenosintriphosphat und Adrenalin auf Schlagvolumen und Frequenz des Froschherzens.

Von

ARTHUR E. MEYER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Dezember 1950.)

KRAYER[1] beobachtete in Versuchen an Herz-Lungen-Präparaten des Hundes, daß die Herzbeschleunigung durch Adrenalin durch gewisse Veratrumalkaloide aufgehoben wird, ohne daß gleichzeitig der inotrope Effekt vermindert wird. Er schloß daraus, daß die „fundamentellen Elemente der Herzwirkung von Adrenalin im Prinzip unabhängig von einander sind". Es schien interessant zu sehen, ob eine gleiche Unabhängigkeit sich auch in Versuchen mit dem Froschherzen unter dem Einfluß von herzaktiven Stoffen zeigen würde.

Die beliebte STRAUBsche Methode hat den Nachteil, daß das aktuelle Flüssigkeitsvolumen, das das Herz befördert, nicht gemessen wird und daß angesichts der Unaktivität des Aurikels irgendwelche Leitungsstörungen nicht beobachtet werden. Gemäß der Methode von E. BÜLBRING[2] wird das Herz von der Vena cava aus durchströmt und das Schlagvolumen gemessen, nachdem der Einflußdruck so erhöht worden ist, daß ein Maximum von Flüssigkeit befördert wird. In diesem Falle wird der Vorhof passiv gedehnt und die Flüssigkeitsförderung kann nicht ausschließlich als das Resultat der Herzarbeit angesehen werden.

Für die folgende Untersuchung wurde eine Anordnung benutzt, in der das Herz unter möglichst „physiologischen" Bedingungen arbeitet, mit einem niedrigen, konstanten Einflußdruck durch die Vena cava, mit einem die Herzkapazität übersteigenden Flüssigkeitsangebot und gegen einen konstanten Widerstand. Die Anordnung entspricht im Prinzip der Beschreibung von VELAZQUEZ und Mitarbeitern[3].

Methode: Der Apparat, der mit einfachen Hilfsmitteln zusammengestellt werden kann, ist in Abb. 1 illustriert. Nach Zerstörung des Zentralnervensystems wird ein großer Frosch (Rana Pipiens) aufgespannt und geöffnet. Der rechte Zweig der Aorta wird abgebunden und eine Glaskanüle in die Vena cava eingeführt. Die Öffnung der Kanüle muß genügend weit sein, daß bei 2 cm Wasserdruck mehr Flüssigkeit ausfließt, als das Herz aufnehmen kann, d. h. 25—30 cm^3 pro Minute. Die Perfusionsflüssigkeit fließt von der MARIOTTEschen Flasche *M* in mäßigem Überschuß in das T-Rohr *ov*, wo der Überschuß durch das Seitenrohr abfließt und wo das Flüssigkeitsniveau eingestellt wird, und von da zur Kanüle. Die Flüssigkeit in dem offenen Seitenrohr der Kanüle wird auf 2 cm Höhe gehalten. Sauerstoff mit 5% CO_2 perlt in feinem Strahle durch die Flüssigkeit in *M* und *ov*. In den linken Zweig der Aorta wird eine möglichst weite Metallkanüle eingebunden und mit dem

Widerstand *Pr* verbunden. Der Widerstand besteht aus einem sehr feinwandigen Gummischlauch, den man herstellt, indem man einen Glasstab in ammoniakalischen Latex taucht und 30 min auf 60, danach 15 min auf 115° erhitzt. Dieser Schlauch ist durch perforierte Gummistopfen in dem geraden Teil eines T-Rohres befestigt. Der Raum um den Schlauch und das vertikale Seitenrohr sind zu einer Höhe von 7 cm mit Wasser gefüllt. Das Herz arbeitet somit mit einem konstanten Einflußdruck von 2 cm gegen einen Widerstand von 7 cm. Die einfließende Flüssigkeit wird in dem Zylinder einer 10-cm³-Injektionsspritze gesammelt, die am Ausfluß durch ein Gummiventil *Va* verschlossen ist. Das Ventil besteht aus dem Deckel einer kleinen Blechdose, etwa 2 cm Durchmesser, der an einem Metallhebel L^1 festgelötet ist und mit einem flachen Stück Gummi von einem Gummihandschuh bespannt ist. Der Hebel dreht sich um das Hebelgelenk *Fu* und trägt einen Anker

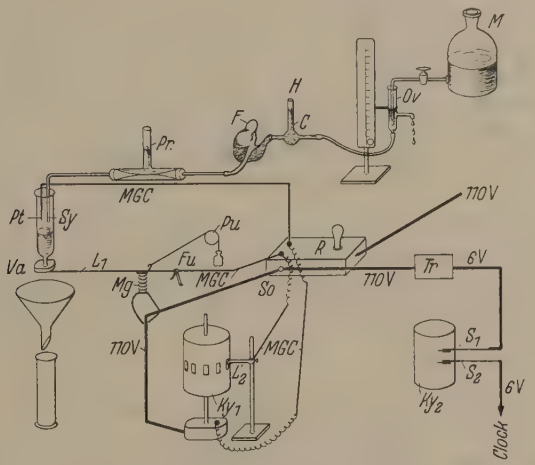


Abb. 1. Schema der Versuchsanordnung (Erklärung im Text).

aus weichem Eisen gegenüber dem Elektromagneten *Mg*. Das Ventil wird vermittels eines Fadens über die Rolle *Pu* mit Gewicht gegen die Spritzenöffnung gepreßt. Der Magnet wird von einem Elektron-Relais aus angeregt, das auf galvanische Schwachströme anspricht, wie sie an der Berührungsstelle von Metall mit Wasser oder zweier verschiedenen Metallarten entstehen. Einer der Erregerpole ist mit dem Hebel L_1 verbunden, die Verbindung mit dem anderen endet frei innerhalb der Spritze in der Höhe der 5-cm³-Markierung. Der Draht, mit Ausnahme des Kontaktpunktes *Pt*, ist durch ein mit Wachs gefülltes Glasrohr geschützt. Dieses Glasrohr darf die Wand der Spritze nicht berühren. Wenn der Gummi des Ventils *Va* naß ist, so wird das Relais erregt, sobald die Flüssigkeit den Punkt *Pt* erreicht. Das Ventil wird durch die Aktivierung des Magneten geöffnet und die Flüssigkeit läuft aus. Dies unterbricht den erregenden Schwachstrom, der an *Pt* sich bildet, und die Spritze wird geschlossen, bevor sie entleert ist. Um dies zu bewirken, wird der 110-Volt-Strom, der von dem Kontakt *So* des Relais geliefert wird, in 3 Stromkreise geteilt. 1. die Verbindung zum Magneten, 2. zu einem Transformator *Tr*, wie man sie zum Laden von Akkumulatoren benutzt. Der 6-Volt-Gleichstrom, der so erhalten wird, geht zu einem Signalmagneten S_1, der auf dem Kymographen Ky_2 die Zeit markiert, während welcher das Relais aktiviert st. Die Zeit in Sekunden wird unterhalb dieser Linie durch den Magneten S_2

registriert. 3. Ein dritter Stromkreis geht zu dem Motor eines elektrischen Kymographen Ky_1. Das Gehäuse des Kymographen und ein Metallhebel L_2, der leicht gegen die Metalltrommel lehnt, sind ebenfalls mit den Aktivationspolen des Relais verbunden, was einen zweiten Aktivationsstrom liefert. Die Berührung von L_2 mit der Trommel wird durch aufgeklebte Streifen von isolierendem Papier unterbrochen. Zu Beginn lehnt L_2 gegen einen Streifen; wird das Relais von *Pt* aus aktiviert, so beginnt der Kymograph sich zu bewegen. Der Hebel gleitet vom Papier und berührt die Metalltrommel und das Relais bleibt erregt bis der Hebel auf den nächsten Papierstreifen gleitet. Die Entfernung zwischen 2 Streifen ist so gewählt, daß die Spritze sich völlig entleert. Die Ruhezeit des Magneten S_1 gibt die Zeit an, die nötig ist, daß das Herz 5 cm^3 fördert.

Die Mariotte-Flasche *M* kann nach Belieben gegen eine andere, welche die zu prüfende Lösung enthält, ausgetauscht werden, ohne daß der Einflußdruck die geringste Änderung erfährt, da dieser ja durch das Überlaufrohr geregelt wird. Die Perfusionsflüssigkeit enthielt NaCl 0,65%, KCl 0,014, $CaCl_2$ 0,011, $NaHCO_3$ 0,02 und Glukose 0,1%. Die Herzoberfläche wurde durch Auftropfen derselben Flüssigkeit feucht gehalten. Der Herzrhythmus wurde in regelmäßigen Abständen mit Hilfe einer Stoppuhr bestimmt. Das Schlagvolumen, berechnet vom Minutenvolumen und Frequenz, ist zwar kein unabhängiger Faktor für die Beurteilung der Herzfunktion, bewies sich aber als zweckmäßig zur Veranschaulichung der Funktionsänderungen.

Winterfrösche, die 1 Woche bei Zimmertemperatur gehalten wurden, verhielten sich qualitativ wie Sommerfrösche. Mehrtägiges Hungern hingegen, hatte einen ungünstigen Einfluß auf die Länge einer gleichmäßigen Herztätigkeit. Die Frequenz schwankte zwischen 36 und 60 Schlägen pro Minute. Berühren und Bewegen des Herzens, nachdem die Perfusion in Gang gekommen ist, ist sorgfältig zu vermeiden. Wenigstens 30 min müssen verstreichen, bevor die erste Versuchslösung angewandt wird.

Da bei langdauernder Perfusion die Herzen langsam hypodynamisch wurden, lag die Vermutung nahe, daß eine funktionswichtige Substanz ausgewaschen wurde. Es wurden daher einige physiologische herzwirksame Stoffe untersucht, nämlich Cytochrom C, Adenosin-5-monophosphat und Adenosintriphosphat*. Die letzte Verbindung ist als Bariumsalz erhältlich. Es wurde in 0,1 normaler Salzsäure gelöst, mit Natriumsulfat vom Barium befreit und nach Adjustieren des p_H der Perfusionsflüssigkeit zugesetzt. Jeder Versuch wurde 3—9mal wiederholt. Die Wirkung wiederholter Einwirkung von Adrenalin und von reduzierter Konzentration von Kalzium wurden ebenfalls beobachtet.

Ergebnisse.

Da die Herzen in Frequenz, Schlag- und Minutenvolumen variieren, ist es nicht möglich Durchschnittswerte anzugeben. Die durchschnittliche Reaktionsrichtung ist im folgenden beschrieben und mit typischen Kurven einzelner Experimente belegt.

1. Nach einer Anpassungszeit von 30 min blieb das unbehandelte Herz (Abb. 2, 1) ungefähr 1 Std lang unverändert, danach fiel die Frequenz langsam ab. Dies wurde aber kompensiert durch ein erhöhtes Schlagvolumen, so daß das Minutenvolumen nicht nur nicht fiel, sondern oft erhöht wurde. Es sei denn, daß die Tiere mehrere Tage ohne Nahrung

* Die Adenosinverbindungen wurden von Herrn Dr. E. K. Harvill, Ernst Bischof Co., Inc. Ivoryton, Conn. freundlichst zur Verfügung gestellt.

geblieben waren, hielt das Herz seine Arbeitsfähigkeit ungefähr 4 Std lang konstant. Dann traten ventrikuläre Unregelmäßigkeiten auf mit reduziertem Schlagvolumen aber wenig verändertem Minutenvolumen.

2. Reduktion des Kalziums in der Perfusionsflüssigkeit auf die Hälfte verursachte prompten Abfall der Herzleistung ohne Änderung der Frequenz oder sogar mit geringer Beschleunigung. Der Leistungsabfall war

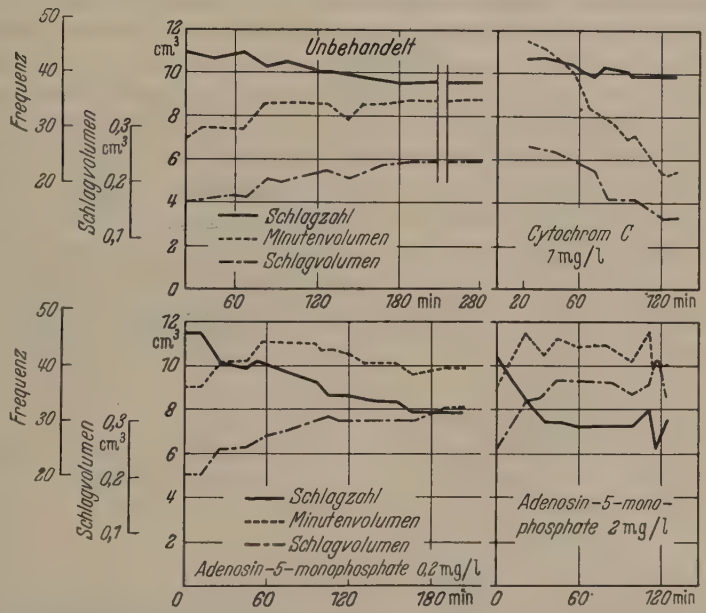


Abb. 2. Beeinflussung von Herzfrequenz und Förderleistung bei Perfusion mit RINGER (Teil 1), Cytochrom C (Teil 2), Adenosin—5—monophosphat (Teil 3).

progressiv. Perfusion mit vollem Kalziumgehalt brachte sofortige Rückkehr zur vorherigen Leistung, oft mit Überkompensation. Langdauernder Kalziummangel ist nicht reversibel; am Ende fällt die Frequenz ebenfalls.

3. Cytochrom C, (Abb. 2, 2) 1 mg pro Liter verursachte eine Verminderung der Flüssigkeitsförderung um 50—60% innerhalb 3—4 Std. Die Schlagfrequenz blieb indessen unverändert oder wuchs um ein Geringes. Konzentrationen von 2 und 4 mg pro Liter hatten dieselbe Wirkung, 6 mg erhöhte den Effekt.

Die Förderung zeigte eine Neigung zur ursprünglichen Höhe zurückzukehren, wenn das Herz nach 1-2 mg ausgewaschen wurde. Diese Rückkehr war, indessen, nach höheren Konzentrationen von kurzer Dauer und ein allgemeiner Abfall setzte bald ein. Unter dem Einfluß höherer Konzentrationen wurden oft ganze Kontraktionen überschlagen.

4. Adrenalin (Abb. 3, 2), immer in Konzentrationen von 0,05 γ pro Kubikzentimeter angewandt, brachte das Minutenvolumen unmittelbar auf ein erhöhtes, konstantes Niveau, während die Frequenz nach einem anfänglich scharfem Anstieg noch mehrere Minuten weiter wuchs. Da während dieser weiteren Frequenzerhöhung die totale Flüssigkeitsförderung sich nicht änderte, so mußte das Schlagvolumen in demselben Verhältnis abnehmen. In einigen Versuchen war das Gesamtvolumen nicht erhöht oder sogar vermindert, was natürlich eine schärfere Verminderung

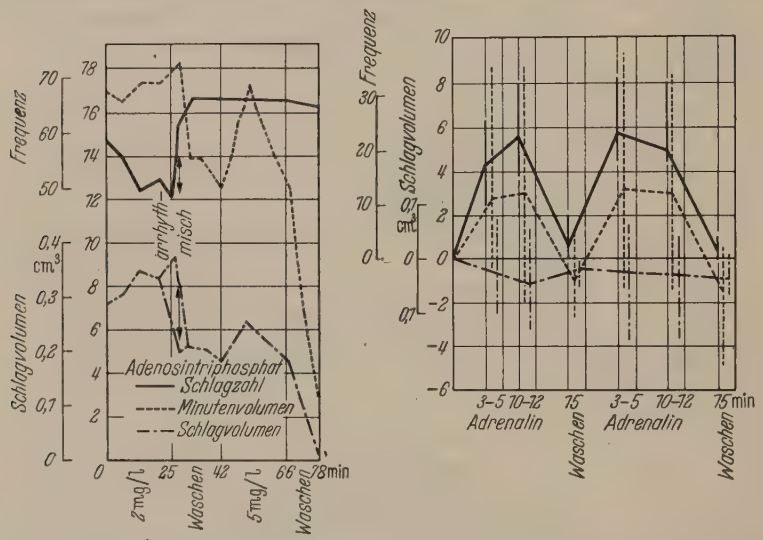


Abb. 3. 1. Perfusion mit Adenosintriphosphat (Teil 1) und Suprarenin 0,05 pro cm³ (Teil 2). 2. Durchströmung mit Suprarenin 0,05 γ pro cm³. Auswaschung mit Clarklösung. Die anfängliche Tätigkeit wurde als Null gesetzt. Die senkrechten Linien zeigen die Streuung der Wirkung.

des Schlagvolumens bedeutete. Auswaschen zeigte volle Reversibilität der Adrenalinwirkung. Erneute Einwirkung von Adrenalin hatte eine sofortige Einstellung auf Maximalwirkung zur Folge, aber dann begann die Frequenz langsam abzufallen. Erneutes Auswaschen verursachte starke Verminderung des Gesamtvolumens bei leicht vermehrter Frequenz, was als ein Verlust der Arbeitsfähigkeit des Herzens gedeutet werden muß. Abb. 3, 2 zeigt die Durchschnittswirkungen und Breite der Abweichungen.

5. Adenosintriphosphat (Abb. 3, 1), 2 mg pro Liter verminderte die Schlagfrequenz. Dieser Effekt wurde völlig kompensiert oder überkompensiert durch ein erhöhtes Schlagvolumen, so daß die Förderung pro Minute erhöht war. Nach ungefähr 30 min langer, unveränderter Arbeitsweise setzten Leitungsstörungen und Unregelmäßigkeiten ein. Diese Störungen verschwanden mit Auswaschen mit gleichzeitigem Verlust an Volumen und Vermehrung der Frequenz über den Ausgangswert

hinaus. Erneute Perfusion mit 5 mg pro Liter erhöhte das Schlagvolumen nur vorübergehend und änderte die Frequenz überhaupt nicht. Erneutes Auswaschen führte dann zu schnellem Abfall des Schlagvolumens zu Null.

6. Adenosin-5-monophosphat (Abb. 2, 3 und 4). Bei 0,2 mg pro Liter fiel die Herzfrequenz während 3 Std ab, während das Schlagvolumen entsprechend zunahm, so daß die Gesamtleistung etwas oberhalb des Ausgangswertes lag. Die Wirkung erinnert an Digitalis. Der Effekt der zehnfachen Konzentration war ähnlich, doch wurde nach kurzer Zeit ein Plateau für beide Funktionen erreicht und nach 2 Std wurde das Herz arrhythmisch. Während des Auswaschens, bevor dieses Stadium erreicht war, fiel die Herzarbeit in einigen Versuchen ab, in anderen erhöhte sich die Frequenz mit gleichzeitigem Verlust der aurikulo-ventrikulären Koordination. Wurde nun die Lösung von 2 mg Stärke erneut angewandt, so stellte sich das Herz sofort auf die vorherige Funktion wieder ein.

Die Frequenzverminderung durch diese Verbindung wurde gegen die Vermehrung durch Adrenalin ausgewertet. Die Resultate sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. *Perfusion mit Adrenalin und Adenosinphosphat.*

Min.	30	45	50	60	65	70	75	80	88	93	100	104	115
Perfus.	F	F	E	E	F	E	E	F	E-A	E-A	E-A	F	F
Fr	48	46	68	67	46	66	60	46	41	43	43	43	43
M.-V.	13,1	13,1	20	20	11,4	20	18	10	13,7	14,2	14,2	10,7	7,5
S.-V.	273	285	294	300	248	306	300	218	334	330	330	249	174

Min. = Zeit in Minuten. Perfusion mit F = normale Perfusionsflüssigkeit, mit E (Epinephrin) = Adrenalin 0,05 γ pro cm³, mit E-A = 0,05 γ Adrenalin mit 2 γ Adenosinmonophosphat pro cm³. Fr = Frequenz. M-V = Minutenvolumen in cm³. S-V = Schlagvolumen in 0,001 cm³.

Diskussion.

Die Analyse dieser Beobachtungen erlaubt drei Schlußfolgerungen, die zusammen die Wirkungsweise des Froschherzens unter dem Einfluß der Versuchssubstanzen erklären.

1. Die Herzfrequenz und die Schlagweite sind bis zu einem gewissen Grade unabhängig von einander. Kalziummangel und Cytochrom vermindern das Schlagvolumen, lassen aber die Frequenz unbeeinflußt: Adrenalin und Adenosinmonophosphat sind gewissermaßen Antagonisten: das erste hat immer eine positive chronotrope Wirkung, während das Schlagvolumen recht variabel beeinflußt wird, das letzte vermindert die Zahl der Herzschläge, erhöht aber die Größe des einzelnen Schlags, so daß die Totalarbeit aufrechterhalten oder vermehrt wird. Die Adenosinverbindung vermag die Herzbeschleunigung durch Adrenalin völlig aufzuheben. Dies entspricht Krayers Erfahrung mit Veratrumalkaloiden. Unter der vereinigten Wirkung beider Substanzen wird ein erhöhtes

Minutenvolumen erreicht und das Schlagvolumen ist größer, als es mit Adrenalin allein erreicht werden kann.

2. Solange die Arbeitsfähigkeit des Herzens nicht gelitten hat, versucht es die Flüssigkeitsförderung konstant zu halten. Adrenalin erhöht die Anlieferung pro Minute unmittelbar; das Herz versucht dann, diese erhöhte Leistung konstant zu erhalten. Die Frequenz wächst langsamer als das Minutenvolumen. Indem dann die Frequenz dem Maximum zustrebt, fällt das Schlagvolumen im gleichen Verhältnis, so daß das gemessene Flüssigkeitsvolumen unverändert bleibt. Diese gegenseitige Kompensation von Frequenz und Schlagvolumen zeigt sich an dem unbehandelten Herzen und noch besser an der Wirkung von Adenosinmonophosphaten. Selbst unter dem Einfluß von Kalziummangel, der das Herz sofort hypodynamisch macht, zeigt sich zu Beginn eine Neigung durch erhöhte Frequenz die Leistung aufrechtzuerhalten. Diese zweite Regel bedeutet eine gewisse Einschränkung der ersten.

3. Alle Herzen werden allmählich hypodynam und verlieren die Fähigkeit, die Förderung aufrechtzuerhalten. Dieser Wirkungsverlust wird erheblich beschleunigt durch die stimulierende Wirkung aktiver Substanzen. Dies offenbart sich besonders, wenn die aktive Substanz abgesetzt wird und die Perfusion mit reiner Flüssigkeit fortgesetzt wird. Es scheint, daß eine funktionswichtige Reservesubstanz aufgebraucht wird und daß dieser Verbrauch durch die Stimulierung des Herzens beschleunigt wird. Die Funktionsstörungen, die vorzeitig mit einigen Substanzen sich zeigen, mögen die Folge eines Konflikts zwischen Stimulus und beginnender Mangelserscheinung sein. Die Unregelmäßigkeiten bestehen unter dem Einfluß von Cytochrom in Überschlagen ganzen Kontraktionen. Die Adenosinverbindungen erregen mehr ektopische ventrikuläre Systolen. Die Wirkung des Adenosintriphosphats ist nicht ganz eindeutig. Am Anfang ist die Wirkung gleich der des Monophosphats, aber diese Stimulation schlägt ins Gegenteil um, nachdem Funktionsstörungen sich entwickelt haben und der Versuch gemacht wurde, die Wirkung durch Auswaschen aufzuheben. Es scheint, daß das Herz sich erschöpft hatte und daß die dadurch bedingte Erniedrigung der Leistung eine Beschleunigung des Schlages im Sinne der Regel 2 hervorrief. Diese Verbindung ist wenig beständig und konnte nicht so oft geprüft werden, wie die anderen Substanzen. Es ist möglich, daß niedrigere Konzentrationen mehr eindeutige Resultate geben würden.

Zusammenfassung.

Das Froschherz bleibt bei Perfusion von der Vena cava unter Flüssigkeitseinstrom unter niedrigem Druck und unter Überwindung eines konstanten Widerstandes gleichmäßig über 4 Std und länger arbeitsfähig. Eine gelegentliche Frequenzverminderung wird durch eine Erhöhung

des Schlagvolumens kompensiert. Adenosin-5-monophosphat verlangsamt den Herzschlag und vermehrt entsprechend das Schlagvolumen. Das erhöhte Minutenvolumen nach Adrenalin ist im wesentlichen eine Folge der Herzbeschleunigung; das Schlagvolumen kann sogar gleichzeitig abnehmen. Die Herzbeschleunigung durch Adrenalin kann völlig durch Adenosinmonophosphat aufgehoben werden, wobei Schlag- und Minutenvolumen zunehmen. Adenosintriphosphate zeigte wenig eindeutige Wirkung. Cytochrom C vermindert das Herzvolumen in zunehmendem Grade ohne die Frequenz zu verändern. Stimulierte Herzen verlieren ihre Arbeitsfähigkeit, was sich am deutlichsten zeigt, wenn die Giftlösung durch reine RINGER-Flüssigkeit ersetzt wird.

Literatur.

[1] KRAYER, O.: J. of Pharmacol. **96**, 422 (1949); **97**, 256 (1949). — [2] BÜLBRING, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — [3] KRAYER, O., and E. F. VAN MAANEN: J. of Pharmacol. **97**, 301 (1949). — [4] VELÁZQUEZ, B. L., J. M. BAYO-BAYO, D. FIGUERAS-AYMERICH et DE LA MATA, W.: Trab. Inst. Nacional Ciencias Médicas **4**, 143 (1945).

Dr. ARTHUR E. MEYER, 26 Christopher St., Fellows Pharmaceutical Laboratories, New York 14. N. Y.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 162—174 (1951).

Aus der I. Med. Univ.-Klinik in Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Lauda).

Zum Problem des Leukozytenstoffwechsels.

1. Mitteilung:

Atmung und Glykolyse normaler und leukämischer weißer Blutzellen.

Von

E. Keibl und K. H. Spitzy.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. August 1950.)

Die weißen Blutzellen entstammen einem Gewebe, das schon normalerweise hohe Wachstums- und Regenerationspotenzen aufweisen muß, um den mehr oder weniger hohen Verschleiß des Organismus an diesen „in der Abwehr eingesetzten Zellen", zu decken. Besonders die Zellen myeloischer Genese zeigen in diesem Zusammenhang einen starken Wechsel. Aus diesem Grunde ergeben sich enge Zusammenhänge des Stoffwechsels dieser Zellen zu Geweben mit starkem Wachstum und häufigen Mitosen, wie dies bei embryonalem und Tumorgewebe vorliegt. Gleichzeitig bedingt die schnelle Bildung und die mehr oder weniger amöboide Struktur empfindliche Zellen, die leicht vulnerabel sind und daher in ihrem Stoffwechsel die Zeichen einer Schädigung aufweisen können.

Schon vor den grundlegenden Untersuchungen Warburgs[1] fiel mehreren Autoren sowohl die starke Milchsäurebildung im Blute — insbesondere unter anaeroben Verhältnissen — als auch die starke Sauerstoffatmung des Leukämikerblutes auf. Sie wurde auf die Atmung der Leukozyten zurückgeführt[2–5]. Mit der Methode nach Warburg wurden an Zellsuspensionen und Gewebsschnitten zahlreiche Untersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse lassen sich zahlenmäßig schwer vergleichen, da die unterschiedliche Methodik, sowie die verschiedene Beziehung der Atmungswerte auf Gewicht, Zahl oder N-Gehalt zu schlecht vergleichbaren Werten führt. Für unsere Fragestellung kommt es mehr auf Verhältniswerte an und es wurden deshalb in der tabellarischen Übersicht die Durchschnitts- Q oder Z-Werte als hoch (— 20), mäßig (— 10) und niedrig (— 5) für die Atmung, die entsprechenden positiven Werte für die aerobe Glykolyse und die doppelten für die anaerobe Glykolyse angegeben.

Wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, wurde demnach für alle Leukozytenarten und Reifungsstadien eine hohe anaerobe Glykolyse gefunden, während sowohl die Höhe des Sauerstoffverbrauches, als auch die der aeroben Glykolyse schwankende Werte zeigt. Sie vermitteln deutlich die Beziehungen zum „Tumorstoffwechsel" nach Warburg, in gleicher Weise aber auch zum „Schädigungsstoffwechsel", wie ihn Druckrey[54, 55] beschrieben hat. Letztere Beziehung gilt besonders für „normale" Exsudatleukozyten[53]. Lymphozyten, Zellen der Erythropoese[57] und Paramyeloblasten scheinen im Vergleich zu den myeloischen Elementen keine

Tabelle 1. *Zusammenstellung der Literaturergebnisse.*

Ursprung und Zellart	Atmung	aerobe Glykolyse	anaerobe Glykolyse	Literatur
Normale Blutleukozyten (n. Bl.):				
Mensch: Blutleukozyten	mäßig	hoch	hoch	6, 7
,,	hoch	hoch	hoch	8
Leukozytose	mäßig	hoch	hoch	7
Hautblase	hoch	hoch	hoch	9, 10
Ratte: n. Bl.	mäßig	niedrig	hoch	11
Exsudatl.	niedrig	hoch	hoch	18
Gans: n. Bl.	mäßig	mäßig	hoch	12, 13
Kaninchen: Exsudatl.	mäßig	hoch	hoch	12, 13
	niedrig	hoch	hoch	14, 15, 16, 17, 19
Knochenmarkzellen (KM):				
Ratte: KM	mäßig	niedrig	hoch	11
KM	mäßig	hoch	hoch	20, 21, 22, 24
KM	hoch	hoch	hoch	28, 29, 30, 31
Leukämiezellen, myeloisch:				
Mensch: *chron. leukäm.:*	mäßig	niedrig	hoch	6, 7, 33—38
	reife höh.	reife weniger		
	reife ,,	reife höher	hoch	32
akute leukäm.:	mäßig	niedrig	hoch	39
	mäßig	keine	hoch	40, 41
Leukämiezellen, lymphatisch:				
Mensch: Blutleukozyten	mäßig	keine	hoch	42, 43
,,	hoch	keine	hoch	44
,,	mäßig	niedrig	hoch	6, 7, 32—41
Mäuseleukämie:				
Blutleukozyten	mäßig	hoch	hoch	48, 49, 52
Lymphknoten	mäßig	hoch	hoch	48—51
Lymphatisches Gewebe:				
Mensch: Lymphknoten	mäßig	hoch	hoch	47
Tonsillen	mäßig	mäßig	hoch	42, 46
hyperpl. ,,	höher	höher	hoch	42, 46
Monozyten:				
Ratte: Lunge	mäßig	mäßig	mäßig	34
Peritoneum	niedrig	hoch	mäßig	53
Erythroblasten:				
Mensch:	hoch	niedrig	hoch	40

oder nur geringe aerobe Glykolyse aufzuweisen. Sie würden damit nicht die Zeichen eines typischen Tumorstoffwechsels tragen. Eine Ausnahme bilden lymphatische Gewebe und Mäuseleukämiezellen. In neueren Untersuchungen finden Warren und andere von den 9 Tumorzeichen nach Burk[59] 8 von normalen myeloischen Zellen erfüllt, wobei das 9. Zeichen — ein niedriger RQ — kein obligates Tumormerkmal sein dürfte[52, 60–62]. Veränderungen des Mediums verursachen Unterschiede im Stoffwechsel, Serum z. B. im Sinne einer Steigerung[11, 21], ebenso dessen Ultrafiltrat[64]. An zusätzlicher Gasbildung wurde im Bikarbonatpuffer Zitronensäure und Ammoniakbildung beobachtet[63].

Es zeigen demnach myeloische Elemente — sowohl normale als auch pathologische, mit Ausnahme der Paramyeloblasten — eine mehr oder weniger hohe Atmung und eine reichliche aerobe Milchsäurebildung, während Lymphozyten und Erythroblasten nur anaerob Milchsäure bilden. Nach Warburg glykolysieren in Sauerstoffatmosphäre „normale, reife Zellen" nicht, in Stickstoff nur wenig. Tumorzellen hingegen weisen nach ihm bei niedriger Atmung starke aerobe und anaerobe Glykolyse auf. Die embryonalen Zellen nehmen eine Mittelstellung ein. Druckrey beobachtete bei „Schädigung" Atmungssteigerung und Erhöhung der aeroben Glykolyse. Warburg führte diese Stoffwechselerscheinung auf die geringe Sauerstoffatmung und Unmöglichkeit der Resynthese der Milchsäure (Pasteur-Meyerhof) zurück. Druckrey nimmt ein Versagen dieses Mechanismus bei gesteigertem Sauerstoffverbrauch an.

Es ergibt sich die Frage, wieweit sich der Stoffwechsel der einzelnen Reifungsstadien — insbesondere bei den myeloischen Elementen — unterscheidet und ob sich die normalen Zellen anders verhalten wie die pathologischen. Weiter wäre zu untersuchen, wie weit es sich bei Leukämien um einen Tumorstoffwechsel handeln könnte und welche Beziehungen zum Schädigungsstoffwechsel herzustellen sind.

Material und Methode: Zur Herstellung der Zellsuspensionen wurde das Blut von 42 Patienten verwendet. Es handelte sich um 10 Normalfälle, 5 Leukozytosen, 11 chronisch myeloische-, 6 chronisch lymphatische-, und 6 akute Paramyeloblasten-Leukämien, 1 Monozytose und um einen Erythroblastenschub einer Ledereranaemie.

Das Blutbild wurde nach den üblichen klinischen Methoden qualitativ und quantitativ kontrolliert und mit den Stoffwechselergebnissen in Beziehung gesetzt.

Das Blut wurde durch Venen- oder Arterienpunktion entnommen, wobei sich kein Unterschied im Stoffwechsel zeigte. Die Nadel und das Reagenzglas wurden mit Heparin (Liquemin Hoffmann-La Roche) benetzt, so daß die Endkonzentration nicht über 1 mg% betrug, was sich in keiner Weise als zellschädigend erwiesen hat[65, 66]. Das Blut wurde mit 95% O_2 und 5% CO_2 im Thermostaten bei 37,5° durchströmt, wobei es längstens nach 1 Std nach der Entnahme zu einer ausreichenden Senkung der Erythrozytenschicht kam. Gelindes Zentrifugieren schadete den Zellen nicht; außerdem kann auf die Durchströmung verzichtet werden, wenn das Absenken nicht über 30 min ausgedehnt wird. Anschließend erfolgte die Abpipettierung der Leukozytenschicht in die Suspensionsflüssigkeit, von der eine Probe zur Zellzählung und Anfertigung des Ausstriches entnommen wurde. Hierauf wurden 5—10 cm^3 große zylinderförmige Warburg-Gefäße gefüllt. Nach 10 min Durchströmung und Gasausgleich bei 120 Schüttelgeschwindigkeit wurde $^1/_4$—$^1/_2$ stündlich abgelesen. Nach Beendigung in 6—48 Std wurde das p_H kolorimetrisch bestimmt, gegebenenfalls ein Ausstrich und eine Entnahme zur chemischen Bestimmung von Zucker und Milchsäure nach Hagedorn-Jensen, bzw. nach Wendel und Zacherl durchgeführt. Bei langdauernden Versuchen wurden aseptische

Verhältnisse eingehalten. Bei Zellzahlen von 5000—20 000 Zellen pro mm^3 konnte nach ausreichender Pufferung und strenger Isotonie weder wesentliche Zellschädigung noch eine mit NESSLER nachweisbare Ammoniakbildung beobachtet werden. Die chemische Milchsäurebestimmung entsprach innerhalb der Fehlergrenzen (± 5%) der manometrischen. 323 Versuche wurden nach der indirekten Methode WARBURGS in Bikarbonat-RINGER-Lösung mit Glukose (0,025 m Bikarbonat und 0,2% Glukose) bei einem p_H errechnet nach HASSELBALCH von 7,43* bei 37,5° durchgeführt. Die Gasgemische waren 95% O_2 und 5% CO_2 für den aeroben und 95% N_2 und 5% CO_2 über glühende reduzierte Kupferspäne für den anaeroben Ansatz. 78 Versuche wurden ohne Glukosezusatz durchgeführt bzw. wurde erst im Verlaufe des Versuches Glukose zugeführt. 97 Versuche erfolgten im Phosphatpuffer nach der direkten Methode der Bestimmung des O_2 Verbrauches mit Absorption der CO_2 in KOH in Luft und Bestimmung des respiratorischen Quotienten nach DIXON und ELLIOT[68] mit und ohne Glukosezusatz. Einzelne Versuche erfolgten im Eigenplasma und in KREBS-RINGER-Lösung.

Die Berechnungen erfolgten nach WARBURG in der Modifikation von DICKENS[68], dabei wurde auf die Zellzahl, die sich bei Suspensionen als sicherster Standard erwiesen hat, bezogen[70]. Da diese Werte mit jenen von Geweben, die auf mg-Gewicht oder Purin-N bezogen sind, nicht ohne weiteres vergleichbar sind, wurde von FIELD und anderen statt der Bezeichnung Q für den Quotienten das Zeichen Z vorgeschlagen[71–73]. Z drückt Mikroliter (Kubikmillimeter) einer Substanz aus, die gebildet oder verbraucht wird, als Gas gemessen und reduziert auf 0 Grad bei 760 mm Hg auf 10^7 Zellen pro Std: es ist damit analog dem Q-Wert und es werden die gleichen Indizes verwendet. Der Verbrauch wird als Minuswert, die Bildung als Pluswert angeführt, der obere Index bezeichnet das Gas, in dem gearbeitet wird, der untere die gebildete oder verbrauchte Substanz. Z_{O_2} bedeutet den Sauerstoffverbrauch, $Z_M^{O_2}$ die aerobe, $Z_M^{N_2}$ die anaerobe Säurebildung[72]. Für unsere spezielle Berechnung ergibt sich:

$$Z_{O_2} = \frac{X_{O_2}\ (\text{pro cm}^3\ \text{Lösung}) \cdot 10000}{\text{Anzahl Leukozyten/mm}^3 \cdot \text{t. Std}}$$

$$Z_M^{O_2} = \frac{\left(X_{CO_2}^{O_2} + X_{O_2}[\text{pro cm}^3\ \text{Losung}]\right) \cdot 10000}{\text{Anzahl Leukozyten/mm}^3 \cdot \text{t. Std}}$$

$$Z_M^{N_2} = \frac{X_{Co_2}^{N_2} \cdot 10000}{\text{Anzahl Leukozyten/mm}^3 \cdot \text{t. Std}}$$

Die Beziehung auf 10^7 Zellen resultiert aus der Berechnung der Lösungsmenge auf cm^3; erscheint also bei einer Lösungsmenge von 2 cm^3 unter anaeroben Verhältnissen eine „reduzierte" Menge CO_2 von 20 mm^3, so ist Z_{CO_2} für 10 000 Leukozyten/mm^3 Suspension gleich 10. Es kann natürlich auch die tatsächlich im Gefäß vorhandene Menge an Zellen mit der gebildeten oder verbrauchten Gasmenge in Beziehung gebracht und dann mit dem Faktor 10^7 multipliziert werden, was umständlicher ist.

Um den Vergleich zwischen Q und Z-Werten herstellen zu können, wurden verschiedentlich Wägungen durchgeführt, nach denen sich ein Gewicht von 10—20 mg für 10^8 Leukozyten ergab (siehe auch [7, 8, 15, 44, 74]). Je nach dem Gewicht der Zelle ist also der Z-Wert mit 0,5—1,0 zu multiplizieren.

Auf den mehr oder weniger starken Abfall der Atmung bei Leukozyten wies bereits FUJITA[11] hin; er erfolgte besonders in RINGER-Lösung. Auch auf p_H-Ände-

* WARBURG gibt 7,66 an, korrigierte aber später diesen Wert auf 7,43[67].

rung[75] und in Phosphatpuffer wurden niedrigere Atmungswerte beobachtet[76]. Der Atmungsabfall erschien uns als ein wichtiges Kennzeichen, da er auch bei schonendster Behandlung der Zellen immer wieder in charakteristischer Weise auftrat. Die Atmungswerte fielen etwa in der Form einer logarithmischen Kurve und ergaben auf einfachem Logarithmenpapier aufgetragen eine Gerade, die mit der numerischen Zeitachse einen Winkel einschloß, dessen Tangens als Ausdruck der Steilheit des Abfalles angegeben wurde.

Alle angegebenen Werte sind Durchschnittswerte aus der jeweils angegebenen Anzahl von Versuchen. Die Schwankungen der Zellverteilung betragen etwa $\pm$ 5%, die der Z-Werte etwa $\pm$ 10%.

Ergebnisse.

1. Indirekte Methode nach Warburg im Bikarbonatpuffer mit Glukose.

Die Werte der ersten Stunde sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Die prozentuellen Anteile der Zelltypen im Blutbild sind auf 10% aufgerundet, die myeloischen Zellen in Myeloblasten, Myelozyten (einschließlich Promyelozyten und Metamyelozyten), Stab- und Segmentkernige und Paramyeloblasten eingeteilt. Die Zahl der Patienten ist in Klammer gesetzt, wenn sie sich auf einen bereits angeführten Patienten bezieht, bei dem sich im Verlaufe der Erkrankung das Blutbild geändert hat.

Aus der tabellarischen Übersicht geht hervor, daß die Werte der ersten Stunde für die Atmung ihren Höchstwert mit 34,3 (was einem Q, auf mg bezogen, von etwa 28,0 entsprechen würde) bei einem Blutbild mit nur myeloischen, meist ausgereiften — vielleicht überreifen — Zellen erreicht. Dann folgen die normalen, weiter die jüngeren Zellen der myeloischen Reihe, weiter die Monozyten und Erythroblasten, die Paramyeloblasten und die Lymphozyten. Auf die Zellzahl bezogen, haben also die myeloischen Zellen, mit ihrer Reife abnehmend, den höchsten Sauerstoffverbrauch, unreife pathologische Zellen und Lymphozyten den geringsten.

Für die aerobe Glykolyse ergeben sich die höchsten Werte bei gleichmäßig verteilten jungen und älteren myeloischen Zellen, während jeweils bei Überwiegen der jungen oder älteren die aerobe Glykolyse wieder absinkt; sie steht demnach nicht in unbedingt abhängiger Beziehung zur Sauerstoffatmungshöhe, d. h. eine hohe Atmung bedingt nicht ein Absinken der Glykolyse (Pasteursche Reaktion), sondern dieses Verhalten hängt von der Zellverteilung ab.

Das Verhältnis aerobe Glykolyse/Atmung bleibt etwa 1,0, während bei zunehmender Reife der Atmungswert wieder die Milchsäurebildung übersteigt, so daß sich der Quotient gegen 0,7 verschiebt. Wesentlich über 1 scheint er uns bei vorsichtiger Behandlung der Zellen nicht zu steigen, lediglich in der 2.—4. Std, wenn die Atmung stärker absinkt und die Glykolyse hochbleibt, oder sogar steigt, sind Werte über 3,0 zu gewinnen.

Die untersuchten Monozyten eines Pfeifferschen Drüsenfiebers zeigten ähnliche Werte wie junge myeloische Zellen, nur scheint die aerobe und anaerobe Glykolyse etwas niedriger zu sein.

Tabelle 2. *Durchschnittswerte der Atmung (Z_{O_2}), der aeroben Glykolyse ($Z_M^{O_2}$) und anaeroben Glykolyse ($Z_M^{N_2}$) in Bikarbonatpuffer mit 0,2% Glukose in der ersten Stunde.*

Ursprung der Zellen	Verteilung	% Myeloblasten	% Myelozyten	% Stab- und Segmentkernige	% Lymphozyten	% Monozyten	% Paramyeloblasten	% Erythroblasten	Zahl der Fälle	Zahl der Untersuchung.	Atmung Z_{O_2}	aerobe $Z_M^{N_2}$ Glykolyse	anaerobe $Z_M^{O_2}$ Glykolyse
Chronische Myelose	a.	50	30	20	—	—	—	—	2	12	18,3	20,3	41,7
	b.	30	50	20	—	—	—	—	1	5	23,2	22,1	44,7
	c.	10	40	50	—	—	—	—	5 (3)	47	25,1	25,1	40,8
	d.	—	40	60	—	—	—	—	2 (3)	88	26,2	21,5	49,7
	e.	—	10	90	—	—	—	—	1 (9)	59	34,3	20,5	50,1
									11	211			
Leukozytose Normale	a.	—	—	90	10	—	—	—	5	10	30,3	21,5	48,0
	b.	—	—	70	20	10	—	—	10	20	25,2	22,0	42,1
									15	30			
Lymphatische Leukämie	a.	—	—	20	80	—	—	—	2 (4)	14	10,2	8,6	20,4
	b.	—	—	10	90	—	—	—	2 (1)	24	9,5	1,0	15,6
	c.	—	—	—	100	—	—	—	4	23	7,2	0	12,5
									8	61			
Monozytose		—	—	30	?	70	—	—	1	4	20,8	20,3	42,0
Erythroblastose		—	—	30	10	—	—	60	1	3	19,8	10,3	31,4
Akute Leukämie	a.	—	10	20	—	—	70	—	2	5	16,2	9,2	31,0
	b.	—	—	10	—	—	90	—	4	9	12,8	1,0	27,1
									6	14			

Erythroblasten, Lymphozyten und Paramyeloblasten weisen in deutlicher Übereinstimmung mit ihrem prozentuellen Auftreten keine oder nur geringe aerobe Glykolyse auf.

Die anaerobe Glykolyse ist für alle zur Untersuchung gelangten Zellarten hoch und entspricht etwa der doppelten Höhe der Atmung.

Bei so leicht zu schädigenden Zellen, wie es die Leukozyten sind, dürfte es, wie auch Druckrey betont, ziemlich schwer sein, Quotienten von Enzymmechanismen, wie es der Pasteur-Meyerhofsche Quotient darstellt, mit einiger Sicherheit zu vergleichen, um so mehr, als es sich bei Leukämien um überwiegend pathologische Zellen und bei Normalen um Zellgemische handelt. Der Grad des Abfalles der Atmung in vitro kann aber als Ausdruck für die Empfindlichkeit der Zellen eingeführt werden. Auf andere Quotienten wurde bewußt verzichtet.

Wie Tab. 3 zeigt, ergibt sich für die verschiedenen Zellen ein deutlich differenter Atmungsabfall in vitro. Der Abfall erfolgt annähernd logarithmisch und es kann bei logarithmischer Auftragung des Z-Wertes und numerischer der Zeit, besonders von der dritten Stunde an, eine ziemlich gerade Linie interpoliert werden. Daraus ergibt sich ein Abfallwinkel α, dessen Tangens aus dem ersten bis vierten Stundenwert berechnet wurde.

Tabelle 3. *Durchschnittswerte der Atmung für die Werte von 6 Std.*

Zellart	Verteilung nach Tab. 1	Z_{O_2} (Minuswerte)					
		1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
Myeloische	a.	18,3	15,2	13,0	10,5	8,0	4,9
Zellen	b.	23,3	24,1	14,2	11,0	9,4	5,7
	c.	25,1	20,1	15,7	10,4	8,7	5,1
	d.	24,2	16,5	13,7	8,9	5,3	3,7
	e.	34,3	23,0	13,4	7,5	4,3	2,3
NormaleZellen	b.	25,2	18,5	13,2	8,2	3,2	1,0
Lymphatische	b.	9,5	8,2	6,1	5,1	4,3	2,8
Zellen	c.	7,2	6,3	4,6	4,5	3,8	3,5
Paramyeloische	a.	16,2	12,5	9,2	6,8	4,9	3,9
Zellen	b.	12,2	9,4	7,9	7,0	5,8	4,0

Für Lymphozyten und unreife Zellen ergibt sich ein Tangens von 0,5—0,8, mit zunehmender Reife eine Zunahme bis über 1,0 (zufällig ergab sich ein Tangens von 1 für normale Zellen, was aber keineswegs einen „Normalwert" darstellt, vielmehr einen ziemlich steilen Abfall bedeutet). Für „normalen" Abfall in vitro müssen Werte unter 0,5 angenommen werden. Bei überalteten Zellen steigt er bis 1,4 (Abb. 1).

In der dritten Stunde ist der Z-Wert für alle myeloischen Zellen etwa gleich, während der 1. und der 4. Stundenwert nach oben und unten auseinanderweichen. Diese Ergebnisse sind nur in Bikarbonatpuffer mit Glukose und nur unter Einhaltung streng einheitlicher Bedingungen zu erreichen. Bei Verwendung anderer Medien und bei der Glykolyse sind die Verhältnisse unübersichtlicher.

2. Im Bikarbonatpuffer ohne Glukosezusatz liegen die Atmungswerte im allgemeinen niedriger, lediglich bei Lymphozyten sind sie im

Durchschnitt etwas höher; es muß aber festgestellt werden, daß die erhebliche Streuung (plus minus 25%) einen sicheren Schluß nicht zuläßt. Eine Glykolyse zeigt sich in diesem Medium unter aeroben Verhältnissen nur kurz oder gar nicht, die Atmung sinkt rasch ab, um aber auf einem Wert von 2,0 für viele Stunden ziemlich konstant zu bleiben.

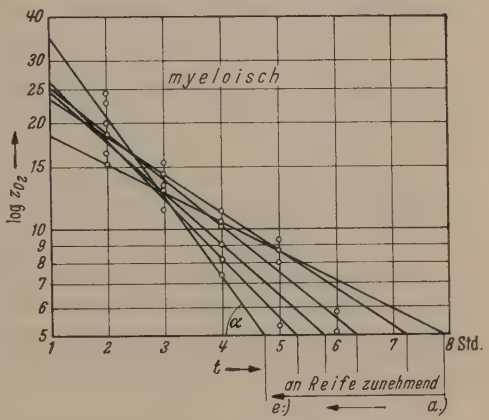


Abb. 1. Atmungsabfallkurven bei logarithmischer Auftragung der Atmungswerte (Z_{O_2}) nach Durchschnittswerten interpoliert. Für myeloische Zellen. Verteilung nach Tab. 1.

Auf Glukose- oder Fruktosezusatz erscheint entsprechend dem Zeitpunkt des Zusatzes eine mehr oder weniger starke aerobe und anaerobe Glykolyse und das auch bei Zellen, die sonst nicht aerob glykolysieren. Bis zum Auftreten der Säurebildung verstreicht meist eine wechselnd lange „Inkubationszeit", die auch von Druckrey beobachtet werden konnte[77]. Die anaerobe Glykolyse bleibt über mehrere Stunden bestehen, wobei eine geringe Ammoniakbildung möglich erscheint.

3. Im direkten Versuch in Phosphat-Ringer-Lösung mit Glukose erscheinen die Werte für myeloische Elemente durchweg niedriger als im Bikarbonatpuffer[76] (Tab. 4). Für die lymphatischen Zellen und für die Paramyeloblasten sind sie nicht so different, wodurch sich die Unterschiede zwischen den Zelltypen weitgehend ausgleichen.

Tabelle 4. *Durchschnittswerte der Atmung, des Atmungsabfalles und des Respiratorischen Quotienten in Bikarbonat — und Phosphatpuffer mit und ohne Glukose. Verteilung nach Tab. 1. n = Zahl der Einzelversuche.*

Zellart	Vert.	Bikarbonat + Gl	n	Bikarbonat − Gl	n	tg α + Gl	Phosphat + Gl	n	Phosphat − Gl	n	RQ + Gl
Myeloische	a.	18,3	12	14,2	8	0,52	9,8	8	10,3	3	—
Zellen	b.	23,3	5	15,1	2	0,64	—	—	—	—	—
	c.	25,1	47	21,5	21	0,76	10,7	9	11,2	3	um 1,0
	d.	24,2	88	18,3	10	0,9	11,1	5	12,0	4	um 1,0
	e.	34,2	59	20,5	10	1,38	11,8	5	11,5	3	> 1,0
Normale Z.	b.	25,2	20	18,4	4	1,02	10,8	8	11,0	8	> 1,0
Lymphat. Zellen	c.	7,2	23	8,5	10	0,5	6,8	10	6,9	9	< 1,0
Paramyeloblasten	a.	16,2	5	10,8	5	0,76	10,4	5	10,2	5	um 1,0
	b.	12,2	9	12,2	8	0,64	10,0	6	10,9	6	< 1,0
			323		78			56		41	

insges. 498 Einzelvers.

Der in diesem Medium gemessene RQ zeigt für myeloische Elemente Werte um 1,0 (als Höchstwerte überreifer Zellen 1, 2), während Lymphozyten und Paramyeloblasten einen RQ zwischen 0,8 und 0,9 aufweisen.

4. Im Phosphatpuffer ohne Glukose sind die Verhältnisse ähnlich schwankend wie im Bikarbonatpuffer ohne Zusatz; die ersten Stundenwerte sind hier meist höher als im Phosphatpuffer mit Glukose, fallen aber rascher ab.

Der RQ schwankt stark um 1, scheint aber nicht gut verwertbar zu sein. Es müssen hier schädigende Einflüsse des Mediums und Autolyse zu einer erhöhten CO_2 Abgabe führen.

5. In anderen Medien waren die Verhältnisse unübersichtlicher. Im Eigenplasma waren die Atmungswerte über kurze Zeit zwar gleichmäßiger, eher niedriger als in Bikarbonatlösung und höher als in Phosphatlösung, es traten aber Agglutinations- und Gerinnungsvorgänge auf, wobei eine Verklumpung der Zellen nicht genügend vermieden werden konnte. Die Werte in Krebs-Ringer-Lösung waren gleich denen in Warburg-Ringer-Lösung.

Diskussion.

Unsere absoluten Werte, besonders der ersten Stunde, sind in dem vorwiegend verwendeten Bikarbonatpuffer ziemlich hoch, stimmen aber mit der sorgfältigen Arbeit Penatis und Mitarbeiter überein[8].

Die Werte Glovers und Mitarbeiter liegen um 50% darunter[7], doch wurden von diesen Autoren insbesondere in bezug auf p_H und Bikarbonatgehalt keine gleichmäßigen Bedingungen eingehalten, worauf schon Kempner, dessen Werte mit unseren etwa übereinstimmen, hingewiesen hat[10]. Die Ergebnisse der Warburg-Schule an Kleintierleukozyten dürften mit den beim Menschen erhobenen nicht vergleichbar sein[11], um so weniger, als die Zellverteilung nicht angegeben ist.

Für die relativen Werte ergibt sich in einer Frage Übereinstimmung: Myeloische Elemente, seien sie normal oder pathologisch in abgestufter Verteilung, glykolysieren mehr oder weniger stark auch in Sauerstoff, Paramyeloblasten und Lymphozyten des Blutes jedoch bilden beim Menschen aerob keine Milchsäure. (Die Mäuseleukämie scheint eine Sonderstellung einzunehmen).

Bei den stark wachsenden und sich schnell regenerierenden weißen Zellen des Blutes ist ein embryonaler Stoffwechsel im Sinne Warburgs zu erwarten: Hohe Atmung, keine oder geringe aerobe und hohe anaerobe Glykolyse. Für myeloische Zellen trifft dies nicht zu, da die beobachtete aerobe Glykolyse mindestens jener gutartiger Tumoren entspricht. Man ist daher versucht, diese Glykolyse auf den Tumorcharakter zu beziehen [6, 33–37], muß sich aber dann folgende Fragen stellen: 1. Warum normale Leukozyten myeloischer Genese ähnliche Zeichen aufweisen[12, 18, 22] und 2. vor allem warum die „bösartigen" Paramyeloblasten gerade keinen Tumorstoffwechsel zeigen[39–41]?

Bemerkenswert erscheint hierzu die Meinung Fleischmanns, der sich Druckrey anschließt, daß es sich um einen Fall von Zellschädigung handelt[55, 56]. Hohe

Atmung und hohe aerobe Glykolyse wurde an verschiedenen Geweben nach Schädigungen nachgewiesen[78–80]. Als besonderes Kennzeichen dafür wird auch das Ausbleiben der PASTEUR-Reaktion beschrieben, wie es sich zum Teil auch bei unseren Untersuchungen ergab.

Daß geschädigte Zellen einen steileren Abfall ihrer Atmungswerte in vitro aufweisen, war zu erwarten, und so nahmen wir als Maß der Schädigung in vitro, ohne Abhängigkeit von der absoluten Höhe des Atmungswertes die Steilheit des logarithmischen Z-Abfalles. Je größer der Anteil an reifen Zellen wurde, um so höher berechnete sich der Tangens des Abfallwinkels. Die Paramyeloblasten stellten sich mit einem Mittelwert außerhalb der zu erwartenden Resultate, zeigten sich damit leichter zu schädigen als Myeloblasten, die ohne „Hiatus leucaemicus" im peripheren Blut vorhanden waren. Das Schneiden der Atmungswerte in der dritten Stunde für myeloische Zellen ohne Hiatus läßt die Vermutung zu, daß alle myeloischen Zellen mehr oder weniger den gleichen Stoffwechsel haben, und daß sie nur in differenter Weise einer Schädigung anheimfallen und damit nur die Zeit, in der der Sauerstoff verbraucht wird, eine verschiedene ist. Dazu verhält sich die aerobe Glykolyse ziemlich unterschiedlich und man hat den Eindruck, daß sie von der Atmung relativ unabhängig ist, wenn auch ein völliges Versagen der PASTEUR-Reaktion, wie es z. B. für die Darmschleimhaut beobachtet wurde[81], nicht auftrat. Immer war ein Drittel bis zur Hälfte der anaeroben Glykolyse im Sauerstoffmilieu verschwunden, wenn die Versuche nicht über 8 Std ausgedehnt wurden.

Ein weiteres Zeichen für die größere Empfindlichkeit myeloischer Zellen ist ihr Verhalten im glukosefreien Medium und in stärker schädigendem Phosphatpuffer. Je leichter eine Zelle zu schädigen ist, um so größer erscheint der Unterschied zwischen beiden Medien, wobei im Phosphatpuffer ohne Glukose die Anfangsatmung zwar höher, der Abfall aber um so steiler erfolgt.

Für den RQ gilt eine ähnliche Verteilung. Die leichter zu schädigende Zelle verbrennt die zugeführte Glukose und scheint darüber hinaus CO_2 (NH_3 ?) zu entwickeln, die weniger leicht zu schädigende Zelle verbrennt zelleigenes Substrat, wie dies auch bei Leberschnitten beobachtet wurde[80]).

Es kann demnach angenommen werden, daß es sich bei Lymphozyten um Zellen handelt, deren Stoffwechsel in vitro wenig geschädigt wird, bei denen der PASTEUR-Mechanismus voll funktionsfähig bleibt und daß diese Zellen im Blut keinen tumorähnlichen Stoffwechsel aufweisen, auch wenn sie leukämisch vermehrt sind.

Die Zellen der myeloischen Reihe besitzen einen von vorneherein starken glykolytischen Mechanismus, der trotz hoher Atmung auch bei normalen Zellen nicht unterdrückt werden kann und besonders bei voll entwicklungsfähigen Zellen mittlerer Reife deutlich wird.

Die Empfindlichkeit der Zellen nimmt mit ihrer Reife zu, was sich in der zunehmenden Steilheit des Atmungsabfalles in vitro ausdrückt. Unreife, nicht mehr

entwicklungsfähige Paramyeloblasten sind empfindlicher als die entwicklungsfähigen typischen Myeloblasten, weisen aber wie diese keine hochgradige Schädigung in vitro auf.

Versucht man die Tatsache mit dem Reifungsgrad der myeloischen Zellen zunehmenden Atmungssteigerung mit der Beobachtung der verstärkten Glykolyse der Myelozytengruppe (im Vergleich zur wesentlich geringeren der unreifen und etwas niedrigeren der reifen Zellen), in Beziehung zu setzen, so kann die Beachtung funktioneller Eigenschaften der verschiedenen Reifungsgrade zur Erklärung beitragen. Mit der Ausreifung der Zellen steigen die phagozytären und fermentativen Potenzen, die Teilungsvorgänge hingegen erreichen ihren Höhepunkt in der Myelozytengruppe. Atmung und Glykolyse steigen von den unreifen zu den reiferen parallel mit allen genannten funktionellen Eigenschaften an. Bei den ganz reifen Zellen erhöhen sich die Atmungswerte weiter, während die Glykolyse fallende Tendenz zeigt. Die höchsten Glykolysewerte stehen unseres Erachtens mit dem Auftreten zahlreicher Mitosen in der Myelozytengruppe im Zusammenhang, während die Atmungswerte mit der Zunahme der vitalen Schutzfunktionen als Ausdruck zunehmender Empfindlichkeit ansteigen. Im Zusammenhang mit der zunehmenden Steilheit des Abfalles in vitro dürfte es sich um einen Schädigungsstoffwechsel im Sinne Druckreys handeln, während die erhöhten Glykolysewerte in Verbindung mit der Mitosehäufigkeit die äußerliche Verwandtschaft zum Tumorstoffwechsel nach Warburg bedingen.

Demnach kann das Auftreten einer aeroben Glykolyse bei myeloischen Zellen nicht ohne weiteres als Tumorstoffwechsel bezeichnet werden, noch kann man daraus eine Tumorbereitschaft ersehen[22], noch kann für alle myeloischen Zellen ein einfacher Schädigungsstoffwechsel angenommen werden. Es dürfte sich unseres Erachtens darum handeln, daß der in Umbildung begriffene myeloische Leukozyt und der ausgereifte empfindliche Zellen darstellen, die in vitro zunehmend mit ihrer Reife leichter geschädigt werden; (dabei ist nicht die aerobe Glykolyse, sondern die Steilheit des Atmungsabfalles ausschlaggebend; die aerobe Glykolyse erscheint uns mit als Ausdruck zunehmender fermentativer und mitotischer Potenzen).

Die in unserem Fall untersuchten Monozyten (Pfeiffersches Drüsenfieber) ähneln in ihrem Stoffwechselcharakter in vitro eher den mittelreifen myeloischen als den lymphatischen Zellen, während sich die untersuchten Erythroblasten (reaktive Erythroblastose bei Ledereranaemie) etwa wie Myeloblasten verhalten.

Zusammenfassung.

An normalen und leukämischen weißen Blutzellen von 15 normalen und 27 leukämischen Patienten wurden in 498 Einzelversuchen mit der

direkten und indirekten Methode nach WARBURG der Sauerstoffverbrauch, die aerobe und die anaerobe Glykolyse, der RQ und der Atmungsabfall in vitro untersucht.

Bei den myeloischen Zellen stieg die Atmung mit zunehmender Reife an, der Atmungsabfall in der Zeit wurde steiler. Die höchste aerobe Glykolyse ergab sich für Myelozyten, während Myeoblasten und reife Zellen eine geringere zeigten. Paramyeloblasten wiesen wie Lymphozyten keine aerobe Glykolyse auf, der Abfall der ersteren war steiler wie der der Myeloblasten.

Als Ausdruck des Atmungsabfalles wird der Tangens des Winkels vorgeschlagen, den der logarithmisch aufgetragene Atmungswert mit der Zeitachse einschließt.

Der Abfall wird als Kennzeichen der Zellempfindlichkeit angesehen und die Beziehungen zum Tumor- und zum Schädigungsstoffwechsel diskutiert.

Literatur.

[1] WARBURG, O.: Stoffwechsel der Tumoren. Berlin: Springer 1926 — [2] BERNARD, C., J. B. BALLIERE et fils: 1855. — [3] GRAFE, E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **102**, 406 (1911). — [4] MACLEAN, H., and H. B. WEIR: Biochemic. J. **9**, 412 (1915). — [5] LEVENE, P. A., and G. M. MEJER: J. of biol. Chem. **12**, 265 (1912). — [6] DALAND, G. A., and R. ISSACS: J. of exper. Med. **46**, 53 (1927). — [7] GLOVER, E. C., G. A. DALAND and H. R. SCHMITZ: Arch. int. Med. **46**, 46 (1930). — [8] PENATI, F., and M. PAPELLINI: Arch. di Sci. biol. **28**, 357 (1942). — Giorn. acad. med. Torino **105**, 2, 96 (1942). — [9] KEMPNER, W., u. E. PESCHEL: Z. klin. Med. **114**, 439 (1930). — [10] KEMPNER, W.: J. clin. Invest. **15**, 679 (1936). — [11] FUJITA, A.: Biochem. Z. **197**, 175 (1928). — [12] FLEISCHMANN, u. F. KUBOWITZ: Biochem. Z. **181**, 395 (1927). — [13] FLEISCHMANN, Wien. med. Wschr. **83**, 215 (1933). — [14] PONDER, E., and J. MACLEOD: J. gen. Physiol. **20**, 267 (1936). — [15] PONDER, E., and J. MACLEOD: Amer. J. Physiol. **123**, 420 (1938). — [16] MACLEOD, J., and C. P. RHOADS: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **41**, 268 (1939). — [17] MENKIN, V., and CH. R. WARNER: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **34**, 594 (1936). — [18] BAKKER, A.: Klin. Wschr. **6**, 252 (1927). — [19] LOHMANN, R.: Z. klin. Med. **135**, 316 (1939). — [20] WARREN, C. O.: Amer. J. Physiol. **110**, 61 (1934). — [21] WARREN, C. O.: Amer. J. Physiol. **128**, 455 (1940). — [22] WARREN, C. O.: Transaction of The New York Academy of Sciences Series II, Vol. 8/7, 222 (1946). — [23] ORR, J. W., and L. H. STICKLAND: Biochemic. J. **32**, 567 (1938). — [24] GOLDINGER, J. M., M. A. LIPTON and E. S. G. BARREN: J. of biol. Chem. **171**, 801 (1947). — [25] MICHELAZZI, L.: Arch. di Fisiol. **38**, 101 (1938). — [26] v. BREZA, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **117**, 240 (1926). — [27] SCHRETZENMAYR, A., u. H. BRÖCHELER: Klin. Wschr. **15**, 998 (1936). — [28] FELIX, K., A. GRASSMÜCK, K. HUCK u. K. MATZE: Z. physiol. Chem. **221**, 137 (1933). — [29] BIRD, R. M., and J. D. EVANS: J. of biol. Chem. **179**, 987 (1949). — [30] EVANS, J. D., and R. M. BIRD: J. of biol. Chem. **181**, 357 (1949). — [31] BRÖCHELER, H.: Inaug.-Diss. Köln 1937; zit. Ber. ges. Physiol. **116**, 66 (1940). — [32] BARREN, E. S. G., and G. A. HARROP, JR.: J. of biol. Chem. **84**, 89 (1929). — [33] SOFFER, L. J., and M. M. WINTROBE: J. clin. Invest. **11**, 661 (1932). — [34] JACKSEN, H., F. PARKER and E. C. GLOVER: J. of exper. Med. **52**, 547 (1930). — [35] HORSTERS, H.: Z. exper. Med. **97**, 479 (1936). — [36] FALCIN LESSES M.: Arch. int. Med. **39**, 412 (1927). — [37] FELLINGER, K., u. J. SCHMID: Wien. Arch. inn. Med. **29**, 245 (1948). — [38] BOSSA, F.: Riforma med. **1937**, 1198. — [39] BOSSA, F.: Haematolo-

gica (Pavia) **18**, 673 (1937). — [40] Kempner, W., and M. Gaffron: Amer. J. of Physiol. **126**, 553 (1939). — [41] Büngeler, K.: Klin. Wschr. **II**, 1982 (1932). — [42] Kempner, W.: J. clin. Invest. **18**, 291 (1939). — [43] Peschel, E.: Klin. Wschr. **2**, 1061 (1930). — [44] Schlossmann, H.: Biochem. Z. **219**, 463 (1930). — [45] Warburg, O., P. Posener u. E. Negelein: Biochem. Z. **152**, 309 (1924). — [46] Lüscher, F.: Z. Hals- usw. Heilkd. **17**, 60 (1927). — [47] Roosenthal, O., u. P. Lasnitzki: Biochem. Z. **196**, 340 (1928). — [48] Victor, J., and J.-S. Potter: J. of exper. Med. **60**, 54 (1934). — [49] Victor, J., and M. B. Wintersteiner: Amer. J. Cancer **22**, 561 (1934). — [50] Hall, V. E., and J. Furth: Canc. Res. **2**, 411 (1942). — [51] Burk, D., H. Sprince, J. N. Spangler, M. C. Boon and J. Furth: J. Nat. Canc. Inst. **3**, 249 (1942). — [52] Summerson, H., J. Gilder and Lee: Federation Proc. **7**, 194 (1948). — [53] Loebel R. O., E. Shorr and H. B. Richardson: J. Bacter. **26**, 167 (1933). — [54] Druckrey, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 231 (1936). — [55] Fleischmann, W.: Naturwiss. **24**, 15 (1936). — [56] Druckrey, H.: Naturwiss. **23**, 796 (1935). — [57] Warren, C. O.: Amer. J. Physiol. **131**, 176 (1940). — [58] Warren, C. O.: Cancer Res. **3**, 621 (1943). — [59] Burk, D.: Symposion on Respiratory Enzymes 253, Univers. of Wisconsin Press (1942). — [60] Warren, C. O.: Amer. J. Physiol. **135**, 249 (1941). — [61] Warren, C. O.: J. Cell and Compar. Physiol. **19**, 193 (1942). — [62] Warren, C. O., and C. E. Carter: J. of biol. Chem. **150**, 267 (1943). — [63] Lutwak-Mann, C.: Nature **164**, 607 (1949). — [64] Warren, C. O.: J. of biol. Chem. **156**, 559 (1944). — [65] Allgöwer, M.: Schweiz. med. Wschr. **40** (1947). — [66] Coman, D. R.: Arch. of Path. **30**, 896 (1940). — [67] Warburg, O.: Biochem. Z. **160**, 307 (1925). — [68] Dickens, F.: in Bamann-Myrböck: Die Meth. d. Fermentforschung. Leipzig 1941, Bd. I., S. 985. — [69] Krebs, H. A.: Z. physiol. Chem. **217**, 191 (1933). — [70] Berenblum, I., E. Chaim and N. G. Hartley: Biochemic. J. **33**, 63 (1939). — [71] Lardy, H. A. and P. H. Phillips: Amer. J. Physiol. **138**, 741 (1943). — [72] Redenz, E.: Biochem. Z. **257**, 234 (1933). — [73] Field, J.: in V. R. Potter: Methods in Med. Res. I, 304 (1948). — [74] Bird, R. M.: J. of biol. Chem. **169**, 493 (1947). — [75] Bird, R. M., and J. D. Evans: J. of biol. Chem. **178**, 289 (1949). — [76] Warren, C. O.: J. of biol. Chem. **156**, 559 (1944). — [77] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [78] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 714 (1939). — [79] Holtz, P., M. Exner u. H. J. Schülmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 243 (1948). — [80] Benda, L., A. Locker u. E. Rissel: Z. exper. Med. **1951** (im Erscheinen). — [81] Dickens, F., and H. Weil-Malherbe: Biochemic. J. **35**, 7 (1941).

Dr. E. Keibl, I. Med. Univ.-Klinik, Wien 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 175—184 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Leiter Prof. Dr. F. Eichholtz).

Weitere pharmakologische Studien an der Kaumuskulatur der Ratte*.

Von
Rudolf Hotovy und Werner König.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. November 1950.)

An der elektrisch gereizten Kaumuskulatur der Ratte konnten Hotovy und Erdniss[1] einen besonders langanhaltenden leistungssteigernden Effekt von Strophanthin und Digitoxin nachweisen.

Dieser setzte, im Gegensatz zu dem mit Prostigmin zu erzielenden, nur langsam ein und führte auch nicht zu der bis 4fach gesteigerten Leistungssteigerung. Diesen Prostigmineffekt hob eine ganze Reihe von Pharmaka nach intravenöser Verabreichung in bestimmter Dosierung auf, ohne die normale Leistung der elektrisch gereizten Kaumuskulatur zu vermindern.

Da die k-Strophanthinwirkung sich in verschiedenen Punkten, wie Wirkungsbeginn, -stärke und -dauer, wesentlich von der mit Prostigmingaben erzielten[1] unterscheidet, wurde versucht, eine nähere Analyse der k-Strophanthinwirkung an der Kaumuskulatur der Ratte zu geben.

Methodik.

Die Versuche wurden in der Anordnung nach Eichholtz, Hotovy und Erdniss[2] durchgeführt. Als Reizgerät diente der Reizgenerator der Fa. Medeor, Hamburg, oder ein einfaches Glimmlampengerät. Die Reizung erfolgte jede Sekunde durch submaximale Reize bei einer Reizstärke von 3—5 Milliampère und einer Reizdauer von 4—6 Millisekunden. Der Blutdruck wurde entweder blutig mit Hilfe eines Hg-Manometers in der Arteria carotis bei Narkose oder unblutig nach Moberg gemessen.

Die Bestimmung des Kaliums im Serum erfolgte mit Hilfe des Flammenphotometers nach Staab** 8 Tage vor dem Versuch und während des Versuches im Maximum der Leistungssteigerung nach k-Strophanthinbehandlung. Das Blut wurde aus der Vena jugularis entnommen. Sämtliche Lösungen, außer der Kaliumchloridlösung, wurden in die Schwanzvene verabreicht. Den Ergebnissen mit den einzelnen Stoffen liegen 6—12 Einzelversuche zugrunde. Untersucht wurden: k-Strophanthin Merck, Kombetin (Boehringer-Mannheim), Adrenalin (Merck u.

* Herrn Geheimrat Prof. Dr. Eugen Rost zum 80. Geburtstag gewidmet.

** Herrn und Frau Dr. Staab danken wir für die Durchführung der Kaliumanalysen.

Farbwerke Hoechst), Calcium Sandoz, Gynergen (Sandoz), Hydergin (Sandoz), Parpanit (Geigy), Novocain (Farbwerke Hoechst), Cocainum hydrochloricum (Merck), Myanesin, Diparcol (Rhône-Poulenc), isoäthionsaures Harmin (Merck), Belladonnin-Hydrochlorid (Merck), Kaliumchlorid (Merck), Natriumzitrat (Merck), Digitonin (Merck), k-Strophanthidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid, Coffein. natr. benz. (Merck), Prostigmin (Hoffmann-La Roche), Curare (Merck), Curarin H. A. F.

Versuchsergebnisse.

1. Beeinflussung der Leistung der Kaumuskulatur durch k-Strophanthin, k-Strophanthidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid und Digitonin.

Durch 5malige intravenöse Gaben von je 10 γ/100 g Gewicht in 5 min Abständen konnte in der Regel von der 3. k-Strophanthingabe ab ein Anstieg der Muskelleistung festgestellt werden. Beim Vergleich der Arbeitskurven nach k-Strophanthinvorbehandlung mit denjenigen durch wiederholte intraperitoneale Kaliumchloridgaben in derselben Versuchsanordnung fällt der für beide Substanzen charakteristische, langsam einsetzende Anstieg der Kaumuskulaturleistung auf. Die Wirkung beider Stoffe im Blutdruck war fast gleich. Die Bestimmung des Kaliumspiegels im Serum während des Versuchsstadiums, in dem eine bedeutende Muskelleistungssteigerung vorhanden war, erbrachte den Beweis, daß eine Hyperkaliämie vorhanden war.

Der Serumkaliumspiegel betrug in den einzelnen Versuchen:

Tier	Serumkaliumgehalt in mg%	
	normal	während der vollen k-Strophanthin-Muskelwirkung
1	20,72	22,28
2	17,96	30,23
3	14,85	31,04
4	14,23	35,2
5	16,44	36,18
6	18,46	30,68
7	haemolytisch	38,83
Mittelwerte	17,11 $\pm$ 0,99 (5,8%)	32,06 $\pm$ 2,208 (6,3%)

Wegen der Beziehung des k-Strophanthins zu den Saponinen wurde das stark hämolysierende und dadurch aus den Erythrozyten Kalium frei machende Digitonin in derselben Versuchsanordnung geprüft. 4×50 γ/100 g Gewicht Digitonin, in 5 min Abständen intravenös injiziert, führte nach Ablauf von 35 min zu einer fast 100%igen Leistungssteigerung der Kaumuskulatur bei gleichzeitiger Ausscheidung von blutigem Urin. Auch in diesen Versuchen besteht eine große Ähnlichkeit des Ablaufes der Muskelleistungssteigerung mit der nach Kaliumchloridgaben

festgestellten. Das raschwirkende k-Strophanthidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid, das wie Digitonin gut wasserlöslich ist, führte bei einer Dosierung von $5 \times 50\,\gamma$ oder $1 \times 100\,\gamma/100$ g intravenös in 5minütigen Abständen zu einer im Verhältnis zu k-Strophanthin rascher einsetzenden Muskelleistungssteigerung. Dieser Befund entspricht den Ergebnissen, die nach Anwendung von k-Strophanthidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid am Warmblüterherzen gefunden wurden[3].

2. Beeinflussung des k-Strophanthineffektes

a) durch *Coffein.*

Bei 5maliger intravenöser Injektion von je $10\,\gamma/100$ g k-Strophanthin in 5 min Abständen wurde innerhalb von 15—25 min das Maximum

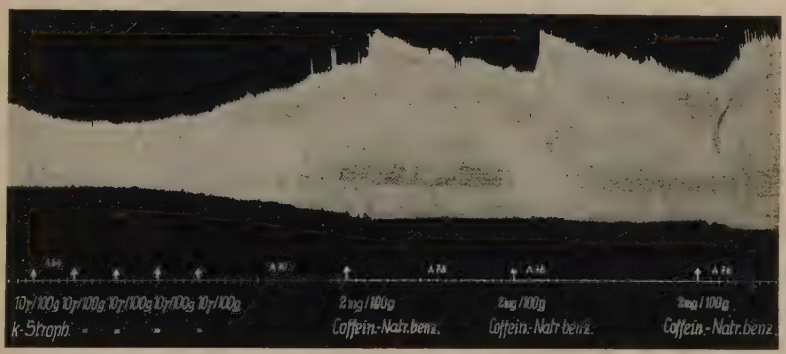


Abb. 1. Myogramm der Kaumuskulatur der Ratte nach k-Strophanthin und Coffein. natr. benz. Reizfrequenz: 1 Hz. Zeitschreibung: min; A = Atmungsfrequenz je min.

der Leistungssteigerung der Kaumuskulatur erzielt, die dann über Stunden beibehalten wurde. Eine intravenöse Gabe von 2 mg/100 g Coffein.-natr. benzoic. führte innerhalb von 1—2 min zu einer zusätzlichen Leistungssteigerung bis um weitere 25% des Ausgangswertes, die aber langsam innerhalb von 7—18 min wieder auf die Ausgangsleistung abfiel.

Die Atmungsfrequenz wurde meist gesteigert. Eine Abflachung der Narkose hatte keinen Einfluß auf die Muskelleistung. Der Coffein-Muskeleffekt konnte 3mal am selben Versuchstier bis zum Erwachen aus der Narkose wiederholt werden (Abb. 1).

b) durch *Adrenalin* (Suprarenin).

Adrenalin allein angewandt, steigerte die Leistung der Kaumuskulatur in unserem Präparat oft bedeutend, während es andererseits in einzelnen Fällen wirkungslos blieb. Nach Steigerung der Muskelleistung (bis um 136%) durch 5malige Zufuhr von je $10\,\gamma/100$ g k-Strophanthin führten

wiederholte Gaben von je 2 γ/100 g Adrenalin intravenös zu einem Leistungsabfall bis um 25%, bezogen auf den Ausgangswert vor der k-Strophanthinbehandlung, und von 3—10 min Dauer. Die Atmung blieb fast unbeeinflußt. Dieser Befund spricht vielleicht für eine periphere Adrenalinwirkung.

c) durch *Prostigmin.*

Am normalen Kaumuskelpräparat der Ratte steigerte das Prostigmin die Leistung rasch bis um 400%. Diese positive Muskelwirkung wurde nach Vorbehandlung der Versuchstiere mit den üblichen k-Strophanthindosen in eine negative Muskelwirkung umgewandelt. Der aufgezeichnete Kurvenverlauf sieht demjenigen nach Kuraregaben sehr ähnlich. Die

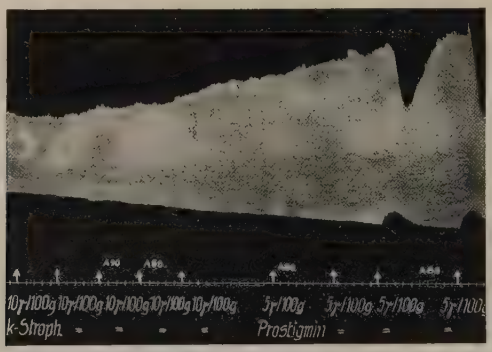


Abb. 2. Myogramm der Kaumuskulatur der Ratte nach k-Strophanthin und Prostigmin. Zeitschreibung: min; A = Atmungsfrequenz je min.

durch k-Strophanthin gesteigerte Muskelleistung kann nach 3—5 min Dauer vollkommen aufgehoben sein. Ähnlich wie nach d-Tubocurarin und Curaregaben waren die erste und auch die zweite intravenöse Gabe von 5 γ/100 g Prostigmin wirkungslos, die nächste dagegen wirkte muskelleistungsvermindernd (Abb. 2).

In einzelnen Fällen folgte nach dem durch Prostigmingabe ausgelösten Leistungsabfall ein geringer, zusätzlicher Leistungsanstieg.

Der leistungsvermindernde Effekt des Prostigmins war durch das Auftreten eines Atmungsstillstandes und durch die dabei auftretende Anoxämie teilweise verdeckt. Durch künstliche Sauerstoffbeatmung konnte dieser kollapsartige Zustand rasch behoben werden. Die k-Strophanthinwirkung flachte im Laufe einer halben bis dreiviertel Stunde, gerechnet vom Maximum der Strophanthinwirkung ab, so daß dann die vorher unwirksamen oder antagonistisch wirksamen Prostigmindosen wieder die typischen Leistungssteigerungen auslösten.

d) durch *Azetylcholin.*

Azetylcholin in einer Dosierung von 2—100 γ/100 g intravenös steigert, besonders bei der niedrigen Dosierung, die Muskelleistung nur

unwesentlich (maximal 25% vom Ausgangswert vor den Strophanthingaben). Bei einer Dosierung von 100 γ/100 g Azetylcholin trat eine curareähnliche Leistungsverminderung auf.

e) durch *Gynergen und Hydergin.*

Die durch k-Strophanthin gesteigerte Muskelleistung konnte durch Hydergin (CCK 179) 60—150 γ/100 g intravenös nicht beeinflußt werden, dagegen führten 2×150 γ/100 g Ergotamintartrat (Gynergen) zum Leistungsabfall. Manche Tiere gingen jedoch nach dieser Gynergenbehandlung ein. Die Atmungsfrequenz nahm nach Gynergengaben zu, z. B. von 76 auf 96/min oder von 64 auf 80/min.

f) durch *Cocainum hydrochloricum und Novocain.*

Die durch k-Strophanthin gesteigerte Muskelleistung konnte durch 1 mg/100 g Cocain. hydrochloricum intravenös in der Regel für 5—7 min

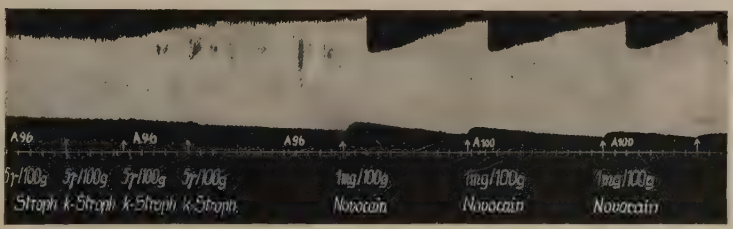


Abb. 3. Myogramm der Kaumuskulatur der Ratte nach k-Strophanthin und Novocain. Zeitschreibung: min; A = Atmungsfrequenz.

völlig aufgehoben werden. Dieser Cocaineffekt wurde im Laufe von 14 und mehr Minuten vollkommen beseitigt, und in einigen Versuchen stieg dabei die Muskelleistung ebenso wie nach Novocain noch weiter zusätzlich an. Bei einem Viertel der Versuche führte die gewählte Cocaindosis zu einem, durch künstliche Atmung rasch zu behebenden Atmungsstillstand. Entsprechend waren die Ergebnisse mit Novocain. Die durch k-Strophanthin gesteigerte Leistung der Muskulatur wurde durch 1 mg/100 g Novocain sofort für 2—5 min aufgehoben. Die Wirkung wurde jedoch nach Ablauf der angeführten Zeit immer schwächer, so daß 10—15 min nach der Novocainapplikation wieder der volle k-Strophanthineffekt nachzuweisen war. Der angeführte Novocain-k-Strophanthin-Antagonismus läßt sich am selben Versuchstier mit gleichbleibender Stärke mehrmals wiederholen (Abb. 3).

g) durch *Parpanit, Belladonnin-Hydrochlorid, Harmin und Diparcol.*

Das Präparat Parpanit konnte in einer Dosierung von 1—2 mg/100 g intravenös die k-Strophanthin-Wirkung am Kaumuskel bei wenig beeinflußter Atmungstätigkeit in einem Teil der Fälle für 8—11 min

Dauer um 30—50 min abschwächen; in den anderen Fällen hielt die Abschwächung für längere Zeit an. Belladonnin, ein besonders gut die Prostigmin-Muskelwirkung beeinflussender Stoff war in der vorliegenden Versuchsanordnung in einer Dosierung von 1 mg/100 g Ratte intravenös nur für 5—9 min um 25—50% leistungsvermindernd. Harmin-isoaethionat wirkte in einer Dosierung von 2 mg/100 g antagonistisch gegen das k-Strophanthin. 2×2 mg/100 g Harmin-isoaethionat intravenös hob den positiven Muskeleffekt vollkommen und dauernd auf. Diparcol war in der Dosierung von 0,5, 1,0 und 2,5 mg/100 g intravenös in der vorliegenden Versuchsanordnung wirkungslos.

h) durch *Curare, d-Tubocurarin und Decamethonium.*

Die k-Strophanthinwirkung auf die Muskulatur konnte erst durch wiederholte Curaregaben von 100—200 γ/100 g beeinflußt werden. 100 γ/100 g Curare oder 10 γ/100 g d-Tubocurarin hoben den k-Strophanthineffekt entweder ganz auf oder schwächten auch zusätzlich die normale Muskelleistung ab, wobei die Wirkungsdauer nur 3—10 min betrug.

Ein gelegentlich auftretender Atmungsstillstand konnte durch künstliche Atmung behoben werden (rhythmisches Aufsetzen eines Schlauches, aus dem unter Druck Sauerstoff ausströmte). Der Atmungsstillstand kann zu einem geringen Leistungsanstieg führen, dem bei Weiterbestehen der Asphyxie ein rascher Leistungsabfall folgt.

Nach jedem Leistungsabfall durch wiederholte d-Tubocurarin resp. Curaregaben stellte sich im Anschluß an die Erholungsphase eine zusätzliche Leistungssteigerung ein (Abb. 4).

Abb. 4. Myogramm der Kaumuskulatur der Ratte nach k-Strophanthin und d-Tubocurarin (Curarin H. A. F.). Zeitschreibung min; A = Atmungsfrequenz je min.

Decamethonium wirkte ähnlich wie d-Tubocurarin. Der Leistungsabfall war nur von kurzer Dauer (2—5 min) 5 γ/100 g intravenös zeigten keine Wirkung, 10 γ/100 g intravenös wirkte nicht in allen Fällen, und 20 γ/100 g intravenös führten zu einem vollkommenen Leistungsabfall

bei gleichzeitigem Atmungsstillstand, der durch O_2-Beatmung rasch behoben werden konnte.

i) durch *Myanesin.*

Myanesin hob in einer Konzentration von 2×5 mg/100 g intravenös die Wirkung des k-Strophanthins vollkommen auf. Nach 20 und mehr min war, wenn auch nicht in allen Fällen, langsamer Leistungsanstieg festzustellen. Myanesin 2×5 mg/100 g Körpergewicht intravenös führte bei den Ratten zu der bekannten, für Myanesin charakteristischen Hämoglobinurie. Die Atmungsfrequenz wurde ebenfalls nachteilig beeinflußt, sie nahm z. B. von 80/min auf 61/min ab.

j) durch *Antistin, Benadryl.*

Beide Antihistaminika wiesen keinen antagonistischen Effekt gegenüber der k-Strophanthinwirkung auf. 1—2,5 mg/100 g beider Substanzen führten im Gegenteil zu einer geringen zusätzlichen Leistungssteigerung. 2,5 mg/100 g intravenös lösten öfters einen durch künstliche Atmung reversiblen Atmungsstillstand aus.

k) durch *Calciumglukonat und Kaliumchlorid.*

Calciumglukonat (2, 3 und 4 mg/100 g intravenös) war ohne jeglichen Einfluß auf die Muskelleistung in der vorliegenden Versuchsanordnung. Kaliumchlorid (1 mg/100 g intravenös) dagegen steigerte für 3 min die Leistung der unter k-Strophanthinwirkung stehenden Kaumuskulatur.

l) durch *Natriumzitrat.*

Die intravenöse und intramuskuläre Verabreichung von 0,5 cm^3/100 g einer isotonischen neutralen Natriumzitrat-Lösung führte zu einer 3—8 min anhaltenden zusätzlichen Leistungssteigerung der Kaumuskulatur von 30—45 % der als normal bezeichneten Ausgangsleistung.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Ratte erwies sich für die Charakterisierung der positiven inotropen Skelettmuskelwirkung von Glykosiden als ein besonders geeignetes Versuchstier, da sie gegen die Wirkung der Herzglykoside am Herzen wenig empfindlich ist.

Diese Wirkungsweise wäre mit dem typischen Effekt der Herzglykoside am insuffizienten Herzen gleich zu setzen, der unter anderem auf eine Beschleunigung der oxydativen Erholungsvorgänge zurückgeführt werden könnte (Bugyi[5], Schumann[6]).

Doch konnte durch del Pozo und Pardo[4] unter Einhaltung bestimmter Bedingungen am ischaemischen M. gastrocnemius der Katze eben-

falls eine Steigerung der Muskelleistung durch k-Strophanthosid erzielt werden, obwohl die Katze gegen k-Strophanthosid sehr empfindlich ist.

Die Kaumuskulatur scheint aber auch bei anderen Tierspezies auf verschiedene Pharmaka empfindlicher als die übrige Skelettmuskulatur zu reagieren, so z. B. auch gegen d-Tubocurarin und Tetanustoxin. Der Digitoxineffekt auf die Muskelleistung setzte nach Hotovy und Erdniss[1] später ein als der von k- oder g-Strophanthin; besonders rasch wirkte k-Strophantidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid[3]. Ob in der Beeinflussung der Polymerisation durch Strophanthin das Actin der Kaumuskulatur mehr dem Actin der übrigen Skelettmuskulatur oder dem des Herzmuskels ähnelt, steht noch offen (Horvath, Kiraly und Szerb[7]).

Die von Hotovy und Erdniss[1] beobachtete Abflachung der Avertinnarkose nach k-Strophanthingaben konnte bestätigt werden. Diese zentrale Strophanthinwirkung scheint besonders für die Ratte charakteristisch zu sein, da nach Gold, Modell, Cattel, Benton und Catlove[8] die Herzglykoside Krämpfe auslösen können.

Zur Steigerung der Strophanthinwirkung an der Muskulatur durch Coffein sei bemerkt, daß dieses neben der direkten Wirkung auf die Muskelsubstanz noch auf die Nervenendplatten ähnlich wie Azetylcholin (Riesser[9]) und außerdem sensibilisierend für jenes wirkt.

Die leistungsvermindernde Wirkung des Adrenalins scheint auf einer Drosselung der Blutzufuhr zur Kaumuskulatur zu beruhen. Prostigmin verhielt sich wie Curare oder d-Tubocurarin, indem erst wiederholte Gaben zu einem Leistungsabfall führten. Vielleicht entfaltet Prostigmin als quaternäre Ammoniumbase, einen dem d-Tubocurarin entsprechenden Effekt. Außerdem führt es durch Esterase-Hemmung zu einer zusätzlichen Anhäufung von Azetylcholin an den sensibilisierten Nervenendplatten, so daß dann eine Blockierung der Nervenendplatten zustande kommt.

Auch Fillenz und Hanafin[10] (1946) konnten einen ähnlichen Effekt des Prostigmins in Kombination mit Azetylcholin am isolierten Froschsartorius feststellen. Wenn man die k-Strophanthinwirkung auf die Kaumuskulatur als eine Cholinesterasewirkung auffaßt, so entsprächen unsere Befunde den von C. C. Hunt[11], mit DFP an der Katze erzielten.

Im Gegensatz zur Physostigminwirkung an der Muskulatur wurde die Strophanthinwirkung durch Hydergin nicht beeinflußt. Da Gynergen beide Effekte abschwächte, könnte dessen Wirkung auf eine Drosselung der Blutzufuhr zur Kaumuskulatur zurückgeführt werden, da sie erst bei toxischen Dosen zu erzielen war.

Die bei wiederholten Gaben Novocain nach anfänglicher Leistungsverminderung beobachtete zusätzliche Steigerung der Muskelleistung ist vielleicht im Sinne einer Diäthylaminoäthanolwirkung nach Soehring[13] zu deuten. Leistungssteigerung nach Antistin und Benadryl konnte auch

N. K. Dutta[12] am isolierten Rattenzwerchfell nachweisen. An Curare, d-Tubocurarin und Decamethonium war die kurze Wirkungsdauer bemerkenswert, da am selben Versuchsobjekt der Prostigmineffekt durch diese Verbindungen vollkommen und dauernd behoben werden konnte. Man könnte daraus vielleicht schließen, daß der Angriffspunkt von k-Strophanthin und Prostigmin nicht derselbe sein kann.

Die in unseren Versuchen beobachtete Wirkung des Natriumzitrats kann vermutlich zum Teil durch Verschiebung des K : Ca-Quotienten erklärt werden.

Zusammenfassung.

1. k-Strophanthidindiäthylaminoessigsäureester-Hydrochlorid erzeugte eine gegenüber k-Strophanthin rascher einsetzende Leistungssteigerung der elektrisch gereizten Kaumuskulatur der Ratte.

2. Digitonin führte nach einer Latenzperiode ebenfalls zu einem Leistungsanstieg.

3. Nach Eintritt der k-Strophanthinwirkung an der Kaumuskulatur konnte eine Erhöhung des Kaliumspiegels im Serum nachgewiesen werden.

4. Coffein, Kaliumchlorid und Natriumzitrat verbesserten zusätzlich die durch k-Strophanthin gesteigerte Muskelleistung für kurze Zeit.

5. Novocain, Parpanit, Belladonnin, Cocain, Curare, d-Tubocurarin und Decamethonium bewirkten nur einen kurzanhaltenden Leistungsabfall.

6. Myanesin und Harmin hoben langanhaltend und vollkommen den k-Strophanthineffekt auf.

7. Diparcol, Antistin, Benadryl, Calcium gluconicum waren in der angewandten Dosierung unwirksam.

8. Azetylcholin steigerte in niedriger Dosierung den k-Strophanthineffekt, und in höherer Dosierung schwächte es ihn ab.

9. Prostigmin wirkte ähnlich wie Curare, d. h. kurzdauernd abschwächend auf die Muskelleistung.

10. Wiederholte Prostigmingaben zeigten Kumulation.

11. Nach $^3/_4$—1 Std k-Strophanthineinwirkung wirkte das Prostigmin wieder charakteristisch leistungssteigernd.

12. Novocain, Cocain, Antistin, Benadryl, d-Tubocurarin führten nach wiederholter Gabe und Behebung des Leistungsabfalles unter dem Einfluß der k-Strophanthinwirkung zu einer langsam einsetzenden zusätzlichen Leistungssteigerung der Kaumuskulatur.

13. Adrenalin führte in der beschriebenen Versuchsanordnung zu einem kurzen Leistungsabfall.

Literatur.

[1] Hotovy, R., u. H. Erdniss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 204 (1950). — [2] Eichholtz, F., R. Hotovy and H. Erdniss: Arch. internat. Pharmacodynamie **80**, 62 (1949). — [3] Küssner, W.: E. Mercks Jahresbericht 1939, 3. — Kreitmair, H.: E. Mercks Jahresbericht 1939, 10. — [4] Pozo, E. C. del and E. G. Pardo: J. of Pharmacol. **97**, 144 (1949). — [5] Bugyi, Bl.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschg. XII. Tagung, 293 (1939). — [6] Schumann, H.: Z. Kreislaufforschg. **38**, 606 (1949). — [7] Horvath, J., C. Kiraly and J. Szerb: Nature **164**, 4175, 792 (1949). — [8] Gold, H., W. Modell, K. McCattell, J. G. Benton and E. W. Catlove: J. of Pharmacol. **91**, 15 (1947). — [9] Riesser, O.: Muskelpharmakologie und ihre Anwendung in d. Therapie der Muskelkrankheiten. Bern: Verlag H. Huber1949. — [10] Fillenz, M., and M. Hanafin: J. Neurophysiol. **10**, 191 (1946). — [11] Hunt, C. C.: J. of Pharmacol. **85**, 82 (1945). — [12] Dutta, N. K.: J. of Pharmacol. **4**, 281 (1949). — [13] Soehring, K.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **16**. Tag. 180 (1949).

Dr. Rudolf Hotovy, Darmstadt, Rhönring 46.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 185—188 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß mehrerer Antihistaminika auf die Vaguserregbarkeit.

Von

Fritz Heim u. Alfred Bänder.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Dezember 1950.)

Am Zustandekommen allergischer Phänomene sind neben der vermehrten Bildung und Freisetzung von Histamin, vor allem beim Menschen, noch andere Vorgänge wechselnd stark beteiligt, so z. B. eine Verschiebung der vegetativen Tonuslage nach der vagotonen Seite hin (Meier und Bucher[1]). Der therapeutische Wert eines Antihistaminicums als Antiallergicum wird deshalb auch vom Grad seiner anticholinergischen Eigenschaften abhängen. In dieser Arbeit wurden deshalb die Antihistaminika Phenergan, Neo-Antergan, Antistin, Thephorin (2-Methyl-9-phenyl-2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-pyridinden), Avil (1-Phenyl-1-pyridyl-3-dimethylaminopropan), Luvistin (Pyrrolidyl-phenyl-benzylamin) und Casantin (Diaethylaminoaethylphenothiazin) hinsichtlich ihres Einflusses auf die Vaguserregbarkeit untersucht, indem die Wirkung elektrischer Vagusreize auf die Frequenz des rechten Vorhofs, den arteriellen Druck und den Tonus der Bronchialmuskulatur vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der intravenösen Zufuhr der genannten Antihistaminika gemessen wurde. Die von uns angewandten Mengen von 0,8 — 1,0 mg Antihistaminicum / kg K. G. Katze entsprechen den am Menschen gebräuchlichen Einzeldosen von 50—100 mg. Der Einfluß auf die Vaguserregbarkeit wurde außerdem mit der Antihistaminwirksamkeit der 7 Verbindungen verglichen.

Methodik.

Sie entspricht weitgehend der in anderen Arbeiten (Heim[2], Heim und Bänder[3]) mitgeteilten. An mit 70 mg/kg Chloralose narkotisierten, künstlich beatmeten Katzen wurde der rechte Vagus durchschnitten und der periphere Stumpf am Hals mit Wechselströmen von 40—50 Hertz und wechselnder Intensität gereizt. Die Reizdauer betrug stets 1,5 sec. Registrierung der Frequenz des rechten Vorhofs am eröffneten Thorax mittels des Fleischschen Ordinatenschreibers, des Blutdrucks in der Art. femoral. und der Bronchialweite mittels der Methode von Konzett und Rössler[4]. 1 mm Ordinatenzeitkurve = $^1/_{30}$ sec.

Versuche.

Als Hauptkriterium der Vagus hemmenden Wirkung dienten die Änderungen der zur Erzielung einer etwa gleichen prozentualen Abnahme der Herzfrequenz benötigten Reizintensitäten. Sie verhalten sich

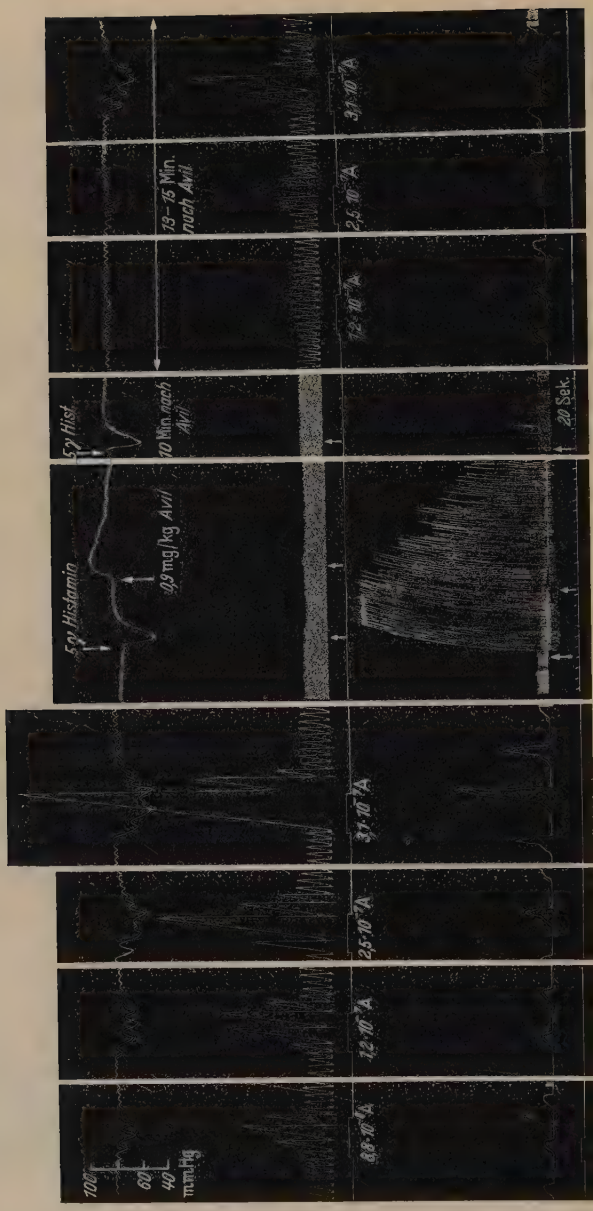


Abb. 1. Katze 2600 g. 70 mg/kg Chloralose. Oben: Druck in der Art. femoral. Mitte: Ordinatenkurve der Frequenz des rechten Vorhofs. Unten: Bronchialweite. Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs am Hals. Reizdauer 1,5 sec.

bei 0,8—1,0 mg/kg Avil, Neo-Antergan, Luvistin und Thephorin wie 1:2—3, Antistin wie 1:10—15, Casantin 1:25 und Phenergan wie 1:200. Der erste Teil der Abb. 1 zeigt die hochgradige Ansprechbarkeit des von Sympathikus- und Depressorfasern isolierten peripheren Vagus-

stumpfs gegenüber elektrischen Reizen und außerdem den mit steigenden Reizintensitäten entsprechend zunehmenden Reizerfolg an Herz, Gefäßsystem und Bronchialmuskulatur. Aus dem 2. Teil der Abbildung ist zu ersehen, daß 13 min nach 0,9 mg/kg Avil die Vagusreizschwelle statt bei $4 \cdot 10^{-8}$ des Vorversuchs nun bei $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ Amp. liegt und der mit $3{,}4 \cdot 10^{-7}$ Amp. zu erzielende Reizerfolg an Herz und Gefäßsystem dem von $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ Amp. des Vorversuchs entspricht.

Der Vagushemmungseffekt der untersuchten Antihistaminika erlischt innerhalb 1—3 Std. Außerdem geht er stets schneller zurück als die Antihistaminwirkung. Wie Meier und Bucher[1] für eine größere Anzahl Antihistaminika gezeigt haben, liegt am Meerschweinchendarm die zur Aufhebung der Histaminwirkung benötigte Schwellenkonzentration durchschnittlich um 2 Zehnerpotenzen unter der zur Verhinderung der Azetylcholinkontraktur benötigten. Beim Abbau der Antihistaminika wird deshalb die anticholinergische Schwellenkonzentration früher als die antihistaminische erreicht.

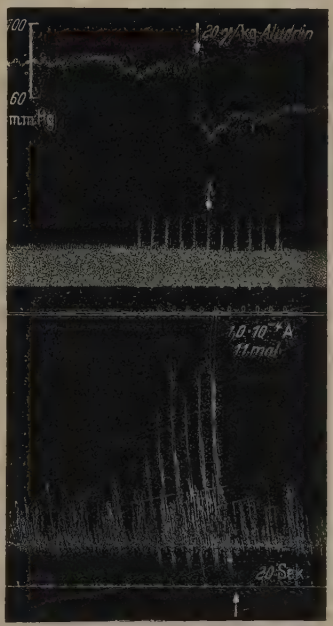


Abb. 2. Katze 5000 g. 70 mg/kg Chloralose. Oben: Druck in Art. fem. Mitte: Ordinatenkurve der Frequenz des rechten Vorhofs. Unten: Bronchialweite. Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs am Hals. Reizdauer 1,5 sec.

Der Blutdruck verhält sich unter Antihistaminika ähnlich wie das Herz, da die Senkungen durch Vagusreize im wesentlichen durch die Abnahme der Herzfrequenz und Herzkraft verursacht sind (Abb. 1). Durch schwache Vagusreize ausgelöste Bronchokonstriktionen werden durch Antihistaminika abgeschwächt bzw. aufgehoben (Abb. 1). In dem in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch ließen sich durch starke Vagusreize ($1 \cdot 10^{-4}$ Amp.) erzeugte Bronchospasmen durch vorausgegangene Injektionen von je 1 mg/kg Neo-Antergan, Theophorin und Casantin nicht, durch 20 γ/kg Aludrin dagegen vollkommen unterdrücken. Allerdings wird durch Aludrin intravenös der Blutdruck nicht unwesentlich gesenkt. Wenn man mehrere, vor allem der schwächer anticholinergisch wirkenden Antihistaminika in kürzeren zeitlichen Abständen nacheinander gibt, so addieren sich ihre vagushemmenden Wirkungen.

Die blutdrucksenkende Wirkung von 1—4 γ/kg Histamin-HCl wird durch die Antihistaminika in den angegebenen Konzentrationen abgeschwächt, nie ganz aufgehoben. Am wirksamsten erwiesen sich Neo-Antergan, Phenergan und Theophorin. Die bronchokonstriktorische

Wirkung der gleichen Histaminmengen wird dagegen durch sämtliche untersuchten Antihistaminika aufgehoben. Die bisher nur für den Menschen, den Hund und — in einer großen Anzahl von Untersuchungen — für das Meerschweinchen nachgewiesene Beeinflußbarkeit des Histamin-Bronchospasmus durch Antihistaminika (Meier und Bucher[1]) konnte somit auch an der Katze gezeigt werden (vgl. Avil Abb. 1). Gering ist die broncholytische *Sofort*wirkung des Avils (vgl. Mittelteil der Abb. 1).

Dies könnte im Sinne der Rezeptorentheorie gedeutet werden, die annimmt, daß die Antihistaminika durch Bindung an die histaminspezifischen Zellrezeptoren diese für Histaminmoleküle blockieren. Solange also die spezifischen Rezeptoren besetzt sind, ist eine Antihistaminikumwirkung nicht möglich. Da die 7 untersuchten Verbindungen etwa gleich starke Antihistaminwirkungen aufweisen, jedoch nur 4 dieser Körper quantitativ gleiche vagusblockierende Eigenschaften besitzen, so besteht vermutlich zwischen beiden Eigenschaften kein unmittelbarer Zusammenhang.

Zusammenfassung.

An Katzen wurde der Einfluß elektrischer Vagusreize auf die Frequenz des rechten Vorhofs, den Blutdruck und die Bronchialweite und außerdem die Histaminwirkung auf Blutdruck und Bronchialmuskulatur vor und nach der intravenösen Injektion von 0,8—1,0 mg/kg Phenergan, Casantin, Antistin, Avil, Thephorin, Luvistin und Neo-Antergan untersucht. Die stärkste vagusblockierende Eigenschaft besitzt das Phenergan, eine mittlere Casantin und Antistin und von geringerer, untereinander etwa gleicher Wirksamkeit, sind die 4 letztgenannten Verbindungen. Vagusschwellenreize werden weniger gehemmt als stärkere überschwellige Reize. Die vagusblockierende Wirkung geht schneller zurück als die antihistaminische. Die anticholinergischen Effekte mehrerer, in kürzeren zeitlichen Abständen nacheinander gegebener Antihistaminika addieren sich. Durch starke Vagusreize ausgelöste Bronchokonstriktionen, gegen die Antihistaminika unwirksam sind, werden durch Aludrin aufgehoben. Auch an der Katze wird der Histaminbronchospasmus durch Antihistaminika unterdrückt.

Literatur.

[1] Meier, R., u. K. Bucher: Pharmakologie der Antihistaminica, in Fortschritten der Allergielehre. New York-Basel 1949. — [2] Heim, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [3] Heim, F., u. A. Bänder: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [4] Konzett u. Rössler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 247 (1940).

Dr. Fritz Heim, Pharmakologisches Institut der Universität Marburg, Pilgrimstein 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 189—198 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. B. Behrens).

Über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf das Sauerstoffbedürfnis des isolierten Uterus der Maus (unter Berücksichtigung des sexuellen Cyclus).

Von
Gerhard Zetler.

Mit 7 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 1. Dezember 1950.*)

Bei Untersuchungen über die Wirkungen des Schwefelwasserstoffs auf isolierte Organe erhielten wir Ergebnisse, zu deren Veröffentlichung wir durch eine Arbeit von Bergstermann und Lummer[1] ermutigt wurden.

Diese Autoren fanden beim Studium der „Wirkung von Schwefelwasserstoff und seinen Oxydationsprodukten auf Bernsteinsäuredehydrase", daß nur die Oxydationsprodukte von H_2S dieses Ferment lähmen, nicht aber H_2S bei Ausschluß von O_2; dies hatte Labes[2] bereits an anderen Objekten gezeigt. Die Autoren der zuerst zitierten Arbeit erwähnen einen Nebenbefund, der für die Deutung unserer Ergebnisse wichtig ist: H_2S ohne gleichzeitige oder nachfolgende Einwirkung von O_2 lähmte nämlich das Ferment nicht nur nicht, sondern es zeigte sich im Gegenteil, daß „in mehreren Versuchen, die mit einem weniger aktiven Ferment ausgeführt wurden, sogar eine geringe Aktivierung zu beobachten war". Die Autoren schreiben weiter: „Diese Aktivierung muß jedoch mit Vorsicht beurteilt werden, da eine geringe Beimengung reduzierender H_2S-Abkömmlinge nicht immer ganz sicher ausgeschlossen werden kann."

Auch bei unseren isolierten und in Ringer-Lösung suspendierten Organen hatte H_2S im Rahmen unserer Versuchsanordnung eine „aktivierende" Wirkung, da diese Organe ein vermindertes O_2-Angebot regelmäßig auffallend besser vertrugen, wenn vorher H_2S auf sie eingewirkt hatte. Am isolierten Uterus der weißen Maus ließ sich diese eindrucksvolle Erscheinung so regelmäßig herbeiführen, daß im Zusammenhang mit dem erwähnten Nebenbefund von Bergstermann und Lummer[1] einerseits und der von Starkenstein[3, 4] ausführlich dargelegten Bedeutung des O_2-Mangels für isolierte Organe („O_2-Phänomen") andererseits eine Veröffentlichung unserer Befunde erlaubt zu sein scheint. Die Versuchsergebnisse Starkensteins[3, 4] bieten die wichtigste Handhabe für ihre Deutung.

Methodik.

Wir arbeiteten zuerst mit den isolierten und in Tyrodelösung suspendierten Dünndärmen von Meerschweinchen, Mäusen und Kaninchen, gingen aber bald

zum isolierten Uterus der weißen Maus über, da hier die Effekte regelmäßiger und deutlicher erschienen. Die Mäuse wurden durch Aufschlagen des Kopfes getötet und das frisch entnommene Uterushorn sofort nach Kehrer[5] in 50 cm^3 Ringer-Lösung suspendiert; die Temperatur des Thermostatenwassers wurde auf 38,0° C gehalten. Ein Stirnschreiber zeichnete die Kontraktionen im Verhältnis 1:7 auf. Eine elektrische Membranluftpumpe schickte einen gleichmäßigen Luftstrom von 200—300 kleinen Bläschen pro Minute durch die Badeflüssigkeit, ohne daß die aufsteigenden Bläschen das Organ berührten.

Den Stickstoff entnahmen wir einer handelsüblichen Stahlflasche; den darin noch enthaltenen Sauerstoff (etwa 2,5%) entfernten wir mittels Pyrogallollösung (5% in 50%iger KOH) und glühender Kupferspäne. Um Ringer-Lösung mit möglichst geringem O_2-Gehalt zu gewinnen, leiteten wir den gereinigten Stickstoff 20 min lang in Gaswaschflaschen durch die Lösung (diese in unserem Sinne O_2-freie Ringer-Lösung wird im weiteren als N_2-Ringer bezeichnet werden). Um ein Eindringen von O_2 in das N_2-Ringerbad zu verhindern, überschichteten wir dieses mit vorgewärmtem Paraffinum liquidum, das sich bis auf ganz geringe Spuren wieder absaugen ließ.

Wurde N_2 ohne Reinigung von O_2 in das Bad eingeleitet, so war keine Änderung der Kontraktionsleistung der Organe festzustellen; mit dem Angebot eines Gasgemisches bestehend aus $N_2 + 2{,}5\%$ O_2 war die optimale O_2-Versorgung der Ringer-Lösung also noch nicht unterschritten. Bei Zwischenschalten einer Pyrogallolwaschflasche verminderte sich die Arbeitsleistung der Organe bereits deutlich, nach zusätzlicher Anwendung glühender Cu-Späne trat das O_2-Phänomen auf.

H_2S stellten wir im Kippschen Apparat aus FeS z. A. (Merck) und reiner 18%-iger HCl her. Das Gas wurde mit destilliertem Wasser gewaschen und in ein Flaschensystem zur Mischung mit Zimmerluft geleitet. Vom Ausströmen aus dem Kippschen Apparat bis zum Einströmen in das Bad verging höchstens 1 min.

Die zur Beurteilung der sexuellen Zyklusphasen der Mäuse benötigten Vaginalabstriche gewannen wir mittels einer feinen Drahtöse, die vor dem Einführen mit Ringer-Lösung befeuchtet wurde. Die Abstriche wurden in der Gasflamme kurz fixiert und mit Methylenblau (MB) gefärbt. Bei der Auswertung wichen unsere Beobachtungen etwas von denen Burns[6] ab, weshalb sie kurz geschildert seien:

a) Erstes Drittel des Proöstrus: Viel Leukozyten, wenig kernhaltige Epithelzellen.

b) Mitte des Proöstrus: Etwa gleiche Mengen von Leukozyten und kernhaltigen Epithelzellen.

c) Drittes Drittel des Proöstrus: Verminderte Leukozytenzahl, sehr viele Epithelzellen mit Kerndegeneration.

d) Östrus: Keine Leukozyten, zahlreiche kernlose Schollen.

e) Metöstrus: Viele Leukozyten, zerfallene Schollen, Detritus.

f) Diöstrus: Sehr wenig Leukozyten, spärlicher Detritus.

Nach unseren Beobachtungen finden sich also im Vaginalsekret der weißen Maus auch außerhalb des Metöstrus Leukozyten, deren Menge im Verein mit der Zahl und der Struktur der Epithelzellen eine Untergliederung des Proöstrus erlaubt.

Versuchsergebnisse.

a) Zusammenhänge zwischen dem Sexualzyklus der weißen Maus und der Arbeitsweise des isolierten Mäuseuterus im O_2-Mangel.

In Vorversuchen fanden wir eine uneinheitliche Reaktion des isolierten Mäuseuterus auf die Einschränkung des O_2-Angebotes, die sich in weiteren systematischen Untersuchungen in Typen gliedern und

bestimmten Abschnitten des Sexualzyklus zuordnen ließ. Der O_2-Mangel des RINGERbades läßt sich leicht durch Abstellen der Luftdurchperlung erreichen, noch schneller allerdings durch Einfüllen frischer Lösung aus einem nicht durchlüfteten Vorratsgefäß. Unten wird gezeigt werden, daß dabei nicht ein völliger Entzug von O_2, sondern nur ein O_2-Mangel erreicht wird.

Die Funktionssteigerung nach Aufhören der Luftdurchperlung bezeichnet STARKENSTEIN[3] (S. 90, Fußnote) als „positives O_2-Phänomen"; in diesem Falle erfolgt auf die erneute Zufuhr von O_2 Funktionsabnahme. Das entgegengesetzte Verhalten nennt er „umgekehrtes O_2-Phänomen". Die Uteri von Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen zeigten in seinen Untersuchungen ein „positives O_2Phänomen" (mit Ausnahme des graviden Kaninchenuterus). Wir fanden bei der Maus regelmäßig ein „umgekehrtes O_2-Phänomen" (den graviden Mäuseuterus untersuchten wir nicht). STARKENSTEIN schreibt schließlich zusammenfassend auf Grund eingehender Untersuchungen (Milchsäurebestimmungen in den isolierten Organen): „Das Sauerstoffphänomen selbst ist der dynamische Ausdruck der bei der Gewebsatmung vor sich gehenden, vom Sauerstoff abhängigen statischen Vorgänge sowie ihrer, durch den Wechsel von oxybiontischer und anoxybiontischer Gewebsatmung bedingten Änderungen." Somit dürfte die Beobachtung des O_2-Phänomens eine brauchbare Handhabe für die Bearbeitung mancher Frage sein, wie auch FLECKENSTEIN und Mitarbeiter[7] bei ihren Untersuchungen über die Kaliumkontraktur des Froschrektus mit Nutzen das Verhalten des Muskels in O_2- und N_2-durchperlter Nährlösung miteinander verglichen haben.

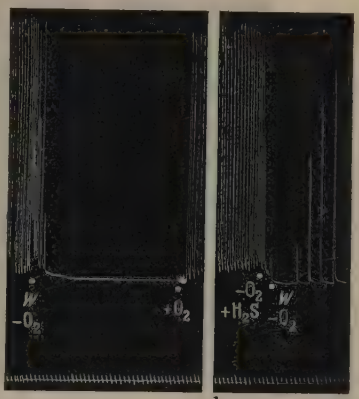


Abb. 1. Mäuseuterus des Diöstrus(Abstr.9). Zeitschreibung in Minuten. a) O_2-Phänomen. $W-O_2$: Abstellen der Luftdurchperlung und Einfüllen undurchlüfteter RINGER-Lösung. $+O_2$: Wiederbeginn der Luftdurchperlung. b) Nach H_2S-Einwirkung treten trotz O_2-Mangels Kontraktionen auf. $-O_2+H_2S$: Abstellen der Luft-, Beginn der H_2S-Durchperlung (1%iges H_2S-Luftgemisch, 400 cm³ in 2 min). $W-O_2$: Ende der H_2S-Durchperlung, Einfüllen undurchlüfteter RINGER-Lösung.

Der Uterus der Maus reagiert auf eine plötzliche Verminderung des O_2-Angebotes auf verschiedene Weise: a) Die Kontraktionen schwinden innerhalb kurzer Zeit völlig (Abb. 1a oder b) sie bleiben in einer mehr oder weniger abgeschwächten Form erhalten, wobei manchmal auch ein kurzes Stadium der Kontraktionslosigkeit vorangeht (Abb. 2b, d). Unmittelbar nach dem Beginn des O_2-Mangels erscheint in beiden Fällen sehr häufig eine rasch vorübergehende Periode der Tonus- und Kontraktionssteigerung (besonders deutlich in Abb. 2c). Bei Belastung des Schreibhebels zeigt sich, daß der Tonus schließlich in jedem Falle abnimmt. An Hand von Vaginalabstrichen ergab sich nun (von wenigen Ausnahmen abgesehen), daß Modus a) dem Diöstrus, Modus b) dem Östrus sowie dem Pro- und Metöstrus entspricht. Modus a) schwindet

bereits bei der geringsten Andeutung des beginnenden Proöstrus im Abstrichpräparat und dürfte deshalb als für den Diöstrus typisch angesehen werden können. Die O_2-Phänomene während des Pro-, Met- und Vollöstrus unterscheiden sich nicht wesentlich voneinander; es hat jedoch den Anschein, als sei die Kontraktionsfähigkeit während des O_2-Mangels im Östrus am wenigsten und im Beginn des Proöstrus am stärksten beeinträchtigt (Abb. 2). Diese Unterschiede kann man jedoch nicht so regelmäßig beobachten wie das Ausbleiben jeder Kontraktion während des Diöstrus. Sehr wesentlich ist nun, daß in der N_2-Ringer-Lösung auch die im

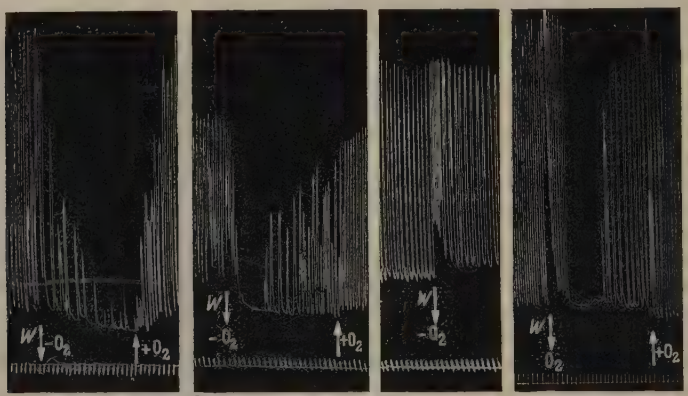


Abb. 2. O_2-Phänomene bei Mäuseuteri außerhalb des Diöstrus. Zeitschreibung in Minuten. a) erstes Drittel des Proöstrus (Abstr. 21); b) zweite Hälfte des Proöstrus (Abstr. 7); c) Östrus (Abstr. 13); d) Östrus (Abstr. 24).

O_2-Mangel noch vorhandenen Kontraktionen völlig verschwinden, um nach Übergang auf O_2-arme Lösung wieder zu erscheinen. Daraus erhellt, daß es tatsächlich nur ein Mangel an O_2 ist, der sich bei der Anwendung von undurchlüfteter Ringer-Lösung einstellt, daß die mechanische Irritation des Bades doch nicht als die Hauptwirkung der Luftdurchperlung anzusehen ist, wie man lange Zeit hindurch annahm (Simonart[8]), und daß in Abwesenheit von O_2 ein isoliertes glattmuskeliges Organ nicht mehr arbeitet (dies fanden wir auch bei isolierten Dünndärmen). Damit bestätigen wir also voll die Befunde von Gross und Clark[9], die bereits vor Simonart die wesentliche Rolle der O_2-Durchperlung der Nährflüssigkeit für das Zustandekommen bekannter pharmakologischer Phänomene an isolierten Darmteilen bewiesen hatten.

Für die verschiedenen Arten des O_2-Phänomens des isolierten Mäuseuterus in Abhängigkeit vom Sexualzyklus dürften zwei Deutungen möglich sein: Entweder hat der Uterus während des Pro-, Met- und Vollöstrus einen geringeren O_2-Bedarf

oder er ist während dieser Abschnitte des Zyklus befähigt, die angebotene suboptimale O_2-Menge besser auszunützen als der Diöstrus-Uterus. Gegen die erste Deutungsmöglichkeit spricht die Tatsache, daß der O_2-Verbrauch des isolierten Mäuse- und Rattenuterus während des Östrus am höchsten ($12{,}4 \cdot 10^{-2}$ cm^3O_2/cm^3Muskel/min) und während des Diöstrus am niedrigsten ist ($3{,}17 \cdot 10^{-2}$ cm^3O_2/cm^3Muskel/min), wie Khayyal und Scott[10] mit der Barcroft-Methode nachgewiesen haben. Deshalb mag die zweite Erklärungsmöglichkeit unserer Befunde am Platze sein: Der isolierte Uterus der Maus vermag während des Diöstrus im Gegensatz zu den übrigen Zyklusstadien ein suboptimales O_2-Angebot nicht mehr auszunützen.

b) Beeinflussung der O_2-Ausnützung durch H_2S.

Die angewandten H_2S-Dosen fanden wir durch Probieren; geringere Dosen ergaben die Befunde nicht und höhere wirkten toxisch. Die Konzentration an H_2S im Gemisch mit Luft betrug 1—3% (gelegentlich auch mehr), die Durchströmungsgröße 200—500 cm^3/min, die Dauer der Durchströmung des Bades meist 2 min; danach wurde sofort ausgewaschen.

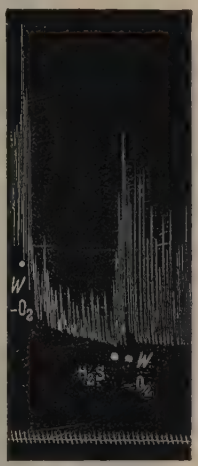


Abb. 3. Verstärkung der O_2-Mangelkontraktionen eines Proöstrus-Mäuseuterus (Abstr. 11) durch Behandlung mit H_2S-Luftgemisch (1%, 400 cm^3 in 2 min). Zeitschreibung in Minuten.

Abb. 3 zeigt in eindeutiger Weise bei einem Proöstrusuterus das Absinken des Tonus und der Kontraktionsleistung im O_2-armen Milieu. Nach H_2S steigt der Tonus nicht an, die Arbeitsleistung nimmt jedoch zu und zwar von 7,34 mm/min auf 28,3 mm/min (Schreibhebelausschlag), das entspricht einer Steigerung um 285% (verwertet wurde die Zeit von der 5. bis 15. min, jeweils nach dem Beginn des O_2-Mangels). Wie die Abb. 1b zeigt, wird der Diöstrusuterus erst durch die H_2S-Behandlung in die Lage gesetzt, sich wie die Uteri der anderen Zyklusstadien auch im O_2-armen Milieu zu kontrahieren. Von vornherein war anzunehmen, daß sich bei den einzelnen Uteri ein individueller Faktor irgendwie geltend machen würde. Dies war hinsichtlich der Dauer der H_2S-Wirkung der Fall. Im allgemeinen hielt die eben gezeigte Wirkung stundenlang im Rahmen eines Versuches trotz zwischengeschalteter langer Perioden optimaler O_2-Versorgung an. Bei einzelnen Uteri war jedoch ein allmähliches Abklingen der H_2S-Wirkung zu beobachten, das durch eingeschobene Perioden optimalen O_2-Angebotes beschleunigt wurde. Daß es sich bei diesem H_2S-Effekt nur um eine bessere Ausnützung des geringen O_2-Angebotes handelt, geht aus Versuchen hervor, bei denen die Uteri nach H_2S-Behandlung in O_2-freie Ringer-Lösung überführt wurden. Abb. 4 zeigt, daß auch nach erfolgreicher Vorbehandlung des Uterus mit H_2S bei Abwesenheit von O_2 (N_2-Ringer) die Kontraktionen völlig verschwinden. Aus diesen Versuchen glauben wir schließen zu dürfen, daß die H_2S-Behandlung den Uterus fähig

macht, geringe O_2-Mengen auszunützen, ohne jedoch anaerobe Kontraktionen zu ermöglichen.

Abb. 5 zeigt, daß Pituigan* in der Lage ist, den Uterus auch in O_2-freiem Milieu zu Kontraktionen zu veranlassen und daß H_2S auch auf

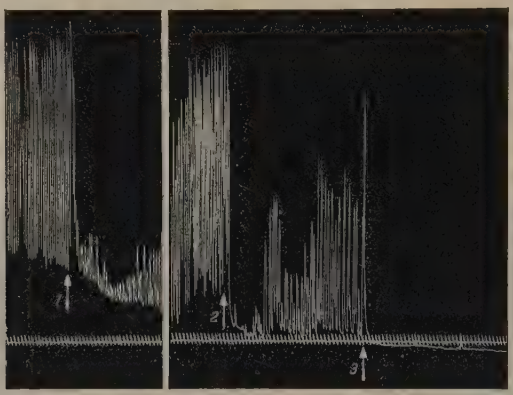


Abb. 4. Die H_2S-Wirkung erlischt in O_2-freier Ringer-Lösung (Proöstrus, Abstr. 11). Zeitschreibung in Minuten. 1. O_2-arme Ringer-Lösung; 2. H_2S-Luftgemisch (1% H_2S, 400 cm³ in 2 min), danach O_2-arme Ringer-Lösung; 3. Einfüllen von N_2-Ringer (paraffinüberschichtet).

die O_2-lose Pituigan-Arbeit fördernd wirkt. Dies führt zu Gedanken in ganz bestimmter Richtung: Der Proöstrusuterus in Abb. 4 zeigte nach

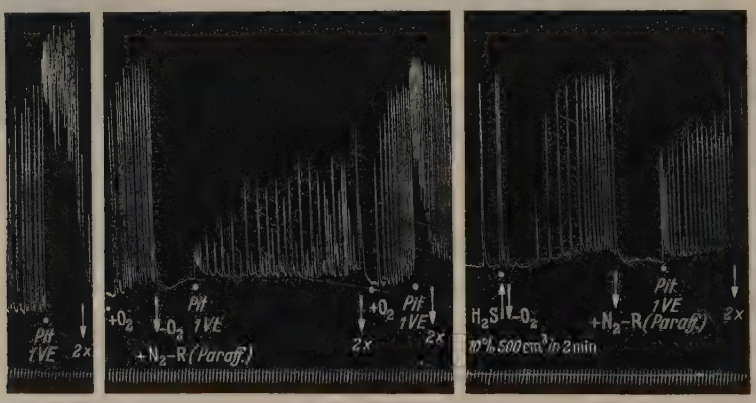


Abb. 5. H_2S-Behandlung steigert auch die O_2-losen Pituigan-Kontraktionen in N_2-Ringer. Diöstrus-Uterus (Abstr. 20), Zeitschreibung in Minuten. Senkrechter Pfeil nach unten: Auswaschen. Pit.: Pituigan. N_2-R: N_2-Ringer.

H_2S-Vorbehandlung in N_2-Ringer eine weitaus geringere Pituigan-Arbeitsleistung als der Diöstrusuterus der Abb. 5 vor der H_2S-Behandlung. Da nun H_2S die Ausnützung geringer O_2-Angebote fördert (aber

* „Pituigan": Hypophysenhinterlappen-Extrakt der Firma Dr. Georg Henning, Hamburg.

nicht O_2-lose Kontraktionen ermöglicht), der Uterus aber im Diöstrus weniger O_2 benötigt als im Östrus, so liegt der Schluß nahe, daß Pituigan die O_2-Reserven des Myoglobins mobilisiert, mit denen der Uterus im Diöstrus besser auskommt als z. B. im Proöstrus. Die O_2-Vorräte, die das Myoglobin zur Verfügung stellen kann, sind nur gering; es ist aber denkbar, daß sie vom Muskel während des O_2-Mangels bei überwiegend anaerober Glykolyse ökonomischer eingesetzt werden können, da auch fermentative Vorgänge durch O_2-Mangel wesentlich umgestaltet werden (Brenztraubensäureabbau: Toenniessen und Brinkmann[19]). Diese Befunde stehen nicht unbedingt im Widerspruch zu unserer Feststellung, der Diöstrusuterus könne wider Erwarten ein geringes O_2-Angebot im Gegensatz zu den Uteri der übrigen Zyklusstadien nicht mehr ausnützen, da ja bei der O_2-losen Pituiganarbeit O_2 in der Muskelzelle selbst frei würde (falls unsere Deutung stimmt), wodurch neuartige Verhältnisse geschaffen würden. Außerdem muß sich auch die Umstellung des Bernsteinsäureabbaues auswirken. — Der verbessernde Einfluß des H_2S auf die O_2-lose Pituiganarbeit ist beträchtlich; die Kontraktionsleistung des Uterus der Abb. 5 betrug nach Pituigan (ohne O_2) vor H_2S 6,31 mm/min, nach H_2S 23,9 mm/min (Steigerung um 280%). Außerdem sind nun die Kontraktionen gleichmäßiger, eurhythmisch.

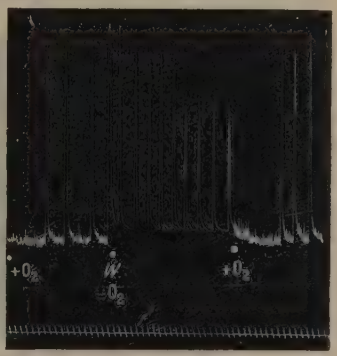


Abb. 6. „Paradoxes O_2-Phänomen": Im O_2-Mangel ist die Kontraktionsleistung besser als bei optimaler O_2-Versorgung. Derselbe Diöstrus-Uterus wie in Abb. 1. Zeitschreibung in Minuten.

Durch mehrmalige H_2S-Gaben, die zwischen wechselnde Perioden der O_2-Armut und der optimalen O_2-Versorgung eingeschaltet waren, gelang es, eine Erscheinung auszulösen, die wir „paradoxes O_2-Phänomen" nennen möchten. Es besteht darin, daß die Kontraktionsleistung und oft auch der Tonus während der O_2-Armut im Vergleich zur optimalen O_2-Versorgung vermehrt sind, so daß das ursprüngliche Verhältnis umgekehrt erscheint. Wir führen Abb. 6 als Beispiel an:

Es handelt sich dabei um das gleiche Objekt wie in Abb. 1; seit dem Ende der Abb. 1a sind 457 min, also rund 7½ Std vergangen, so daß der Absterbevorgang in diesem Falle unbedingt eine Rolle spielt. Während der erwähnten Zeit wurde 3mal H_2S gegeben und zwar 400, 600 und 400 cm^3 der 1%igen H_2S-Luftmischung jeweils innerhalb von 2 min; dazwischen lagen 8 Perioden der O_2-Armut von je 15—20 min Dauer, abgelöst von ebensolangen O_2-reichen Abschnitten.

In fast allen Fällen trat diese Erscheinung erst nach mehreren Stunden Überlebenszeit ein, in einem Falle allerdings erschien es schon

wenige Minuten nach der ersten H_2S-Gabe, nachdem der Uterus noch keine 1½ Std suspendiert war.

Mit zunehmender prämortaler Veränderung des isolierten Uterus schwindet schließlich die Möglichkeit, durch die H_2S-Behandlung die Ausnützungsfähigkeit geringer O_2-Mengen zu verbessern. Bei einem Proöstrus-Uterus, der sich seit morgens 10 Uhr im Bade befand, konnte auch 22.40 Uhr noch die bereits gesunkene Kontraktionsleistung und diesmal auch der Tonus durch H_2S deutlich gebessert werden, nach Verstreichen der Nacht, um 9 Uhr morgens, gelang dies jedoch nicht mehr, falls man nicht eine leichte Abnahme des prämortal stark gesteigerten Tonus positiv deuten möchte.

Im letzten Teil unserer Versuche stellten wir uns die Frage, ob der Uterus durch die H_2S-Behandlung vielleicht in die Lage versetzt würde, einen H-Akzeptor auszunutzen, der sonst wirkungslos ist. Wir griffen zum Methylenblau (Endkonzentration im Bade 1:5000) und in der Tat

Abb. 7. Nach Behandlung mit Methylenblau (MB) und H_2S kontrahiert sich der Uterus (Östrus, Abstr. 13) auch ohne die Anwesenheit von O_2 rhythmisch. MB-Gabe allein verursacht lediglich einmalige Kontraktion. MB-Konz. 1 : 5000. Die Lücke in der Kurve entspricht 3,5 Std. Zeitschreibung in Minuten. W: Auswaschen. W − O_2: O_2-arme Ringer-Lösung. W + N_2 − R: N_2-Ringer-Lösung (paraffinüberschichtet).

zeigten in 4 von 7 Versuchen die Uteri nach kombinierter Anwendung von H_2S und Methylenblau (MB) gute Kontraktionen im O_2-freien Milieu. MB allein war wirkungslos, eine Abhängigkeit vom Zyklus war nicht deutlich, nur folgende Reihenfolge: erst MB — Waschen — O_2 — H_2S, also MB *vor* H_2S, schien wirksam zu sein. Abb. 7 zeigt einen typischen Versuch, der auch mit dem anderen Horn dieses Uterus gelang. Bei der ersten N_2-Ringer-Gabe bleiben die Kontraktionen nach der kurzen typischen Erregungsphase ganz aus, auch die MB-Anwendung (charakteristische einmalige Kontraktion, die sich beim virginellen Meerschweinchenuterus nach Gazet du Chatelier und Assenmacher[12] nur bei mäßigem und nicht bei reichlichem O_2-Angebot einstellt) ändert daran nichts. Nach H_2S sind die hypoxischen Kontraktionen wie üblich ergiebiger geworden, bei Übergang auf N_2-Ringer fehlt jetzt die initiale Erregung, statt dessen stellen sich Kontraktionen ein. Diese Tätigkeit behielt der Uterus in den nächsten 3½ Std bei, obwohl nie O_2

angeboten, die N_2-Ringer-Lösung jedoch zweimal erneuert wurde. Bei O_2-Gabe tritt nun eine starke Erhebung der Fußpunkte ein — nach unseren Beobachtungen ein Zeichen der MB-Intoxikation. Bei erneutem völligem Entzug von O_2 bleibt der Uterus wiederum aktionsfähig. — Diese Versuche dürften im Sinne der oben ausgesprochenen Vermutung sprechen und scheinen uns einen Hinweis darauf zu geben, daß H_2S im Rahmen unserer Versuchsanordnung tief in den Stoffwechsel des isolierten Uterus eingreift und zwar nicht ausschließlich im Sinne eines vernichtenden Fermentgiftes.

Die MB-Versuche geben einen Hinweis auf den Angriffspunkt der H_2S-Wirkung. Daß MB das Bernsteinsäure-Fumarsäuresystem erheblich beeinflußt, ist seit Thunbergs Versuchen bekannt (Michaelis[13]). Da aber MB den Uterus in N_2-Ringer-Lösung nur im Zusammenhang mit der H_2S-Behandlung rhythmisch arbeiten läßt, muß H_2S spezifisch in den intermediären Stoffwechsel eingreifen. Dies scheint im Hinblick auf den Chemismus des Bernsteinsäure-Fumarsäuresystems durchaus möglich zu sein. Dabei ist interessant, daß die Bernsteinsäurekodehydrase eine SH-Gruppe enthält, die die Affinität des Fermentes zum Substrat bedingen soll, ferner daß Zystein und Askorbinsäure diese SH-Gruppe vor blockierenden Giften schützen (Cedrangolo und Balbi[14]). Daß MB spezifisch in das Bernsteinsäure-Fumarsäuresystem an Stelle des O_2 als H-Akzeptor eingreift, müßte auch in unseren Versuchen sichtbar sein. In der Tat folgte immer der MB-Gabe eine einmalige ergiebige Kontraktion; da aber kein O_2 zur Oxydation des MBH_2 zur Verfügung stand (N_2-Ringer), blieb es bei dieser einen Kontraktion. Nun ist weiter bekannt (nach Fürth[15]), daß KCN dabei wohl den aeroben, nicht aber den anaeroben Vorgang lähmt, und daß andererseits das Thunbergsche Präparat auch S zu H_2S zu reduzieren vermag. Da nun nach Thunberg[16] die Bernsteinsäuredehydrase oxydierend und reduzierend im Sinne eines Redox-Vorganges wirken kann, könnte eine Art Kreisprozeß möglich sein, in dem der nach Labes[2] im Gewebe entstehende S an Stelle von O_2 durch Vermittlung der Bernsteinsäuredehydrase die Rolle des H-Akzeptors übernimmt, wodurch die O_2-losen Kontraktionen in unseren MB-H_2S-Versuchen erklärbar würden.

Zusammenfassung.

Nach Feststellung des jeweiligen Zyklusstadiums wurden weißen Mäusen die Uteri entnommen und in Ringer-Lösung suspendiert. Es wurde der Einfluß von H_2S auf das Starkensteinsche O_2-Phänomen untersucht. Ergebnisse:

1. Der nichtgravide Uterus erwachsener weißer Mäuse zeigt Abnahme oder Schwinden der Kontraktionen im O_2-Mangel.

2. Im Diöstrus vermag der Uterus im Gegensatz zu den Uteri der übrigen Zyklusstadien ein suboptimales O_2-Angebot nicht auszunützen.

3. Nach Vorbehandlung mit H_2S arbeiten die Uteri im O_2-Mangel besser; dies beruht darauf, daß jetzt die geringen O_2-Mengen besser ausgenützt werden.

4. Auch die O_2-lose Arbeit des Uterus unter Pituiganwirkung wird durch H_2S-Vorbehandlung ergiebiger.

5. Nach kombinierter Behandlung mit MB und H_2S kontrahiert sich der Uterus auch in Abwesenheit von O_2 rhythmisch; H_2S oder MB allein zeitigen nicht diesen Effekt.

Literatur.

[1] Bergstermann, H., und H. D. Lummer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 509 (1947). — [2] Labes, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **131**, 305 (1928). — [3] Starkenstein, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie **65**, 423 (1941). — [4] Starkenstein, E., und M. A. Zagt: Arch. internat. Pharmacodynamie **67**, 74 (1942). — [5] Kehrer, E.: Arch. Gynäk. **81**, 160 (1907). — [6] Burn, I. H.: „Biologische Auswertungsmethoden", S. 108. Berlin 1937. — [7] Fleckenstein, A., W. Brose, H. I. Canis und A. Förderer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 235 (1950). — [8] Simonart, A.: Arch. internat. Pharmacodynamie **31**, 279 (1926); **32**, 130 (1926). — [9] Gross, L., und A. I. Clark: J. of Physiol. **57**, 457 (1923). — [10] Khayyal, M. A., und C. M. Scott: Quart. J. exper. Physiol. **24**, 149 (1934). — [11] Toenniessen, E., und E. Brinkmann: Klin. Wschr. **9**, 211 (1930). — [12] Gazet du Chatelier, M. G., und Chr. Assenmacher: Ann. pharmaceut. franç. **8**, 114 (1950). — [13] Michaelis, L.: „Oxydations-Reduktionspotentiale", S. 134. Berlin 1929. — [14] Cedrangolo, F., und R. Balbi: Arch. di Sci. biol. **27**, 176 (1941). — [15] Fürth, O.: Oppenheimers Handb. d. Biochem. **8**, 52. Jena 1925. — [16] Thunberg, S.: Oppenheimers Handb. d. Biochem. **3**, 250. Jena 1930.

Dr. Gerhard Zetler, Kiel, Hospitalstraße 20,
Pharmakologisches Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 199—206 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Dir.: Prof. Dr. Janssen).

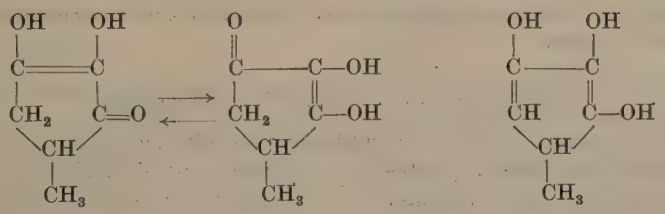
Zur Pharmakologie der Methylreduktinsäuren.

Von
Günter Grupp.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Februar 1951.)

Eine methylierte Reduktinsäure wurde von Hesse und Reicheneder[3] bei der Spaltung des Herzgiftes Calotropin aufgefunden. Sie vertritt darin offenbar, auch in der pharmakologischen Wirkung[10], den Zucker, der sonst in den pflanzlichen Herzgiften gefunden wird. Durch die Möglichkeit von Wasserstoff-Verschiebungen im Molekül sind verschiedene Isomere der Methylreduktinsäure denkbar. Synthetisch wurde bisher noch nicht die aus dem Calotropin erhaltene Form hergestellt, dagegen aber 2 andere Formen, die sich in kristallisiertem Zustand ineinander umwandeln lassen und die in Lösung beide in gegenseitigem Gleichgewicht vorhanden sein werden. Diese Synthese gelang Hesse und Böckmann[4].

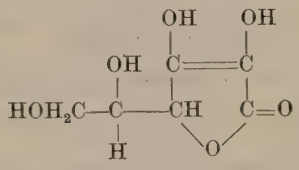


I II

Die beiden synthetischen Methylreduktinsäuren entsprechen dem Formelbild I. Für die Herzgift-Methylreduktinsäure ziehen Hesse und Böckmann die tautomere Form II in Erwägung.

Im chemischen Verhalten der Methylreduktinsäuren fällt neben der sauren Natur, die etwa der Askorbinsäure oder der Essigsäure gleichkommt, das hohe Reduktionsvermögen auf. Hierin übertreffen sie die Askorbinsäure und die einfache Reduktinsäure noch. Ganz besonders ausgeprägt ist dieses Reduktionsvermögen, welches allerdings erst nach der Abspaltung manifest wird, bei der aus den Herzgiften erhaltenen Form. Aber auch die synthetischen Methylreduktinsäuren autoxydieren in einiger Zeit an der Luft.

Die Methylreduktinsäuren weisen sowohl im chemischen Verhalten als auch in der Struktur (Lage der Hydroxyl- und Ketogruppen) Ähnlichkeit mit der Askorbinsäure (Formel III) auf, die den Stoff pharmakologisch interessant erscheinen lassen. Sie unterscheiden sich jedoch in einem wesentlichen Punkt. Die Askorbinsäure wird in Gegenwart anderer Reduktionsmittel reversibel oxydiert, während die Methylreduktinsäuren irreversibel oxydiert werden.



III

Die folgenden Untersuchungen wurden mit Lösungen der synthetischen Methylreduktinsäuren (MRS) durchgeführt.

Toxizität.

Kaninchen erhielten bis 200 mg pro Kilogramm MRS in die Ohrvene injiziert. Die Tiere ertrugen die Injektion ohne Beeinträchtigung, oder es kam in Einzelfällen zu einer leichten Erhöhung der Atemfrequenz, die wir auf die saure Natur der MRS zurückführten.

Die Toxizität der MRS ist demnach gering und scheint bei Dosen zu liegen, die wir mit unseren relativ geringen Substanzmengen nicht erreichen konnten.

Ausscheidung und Schicksal im Organismus.

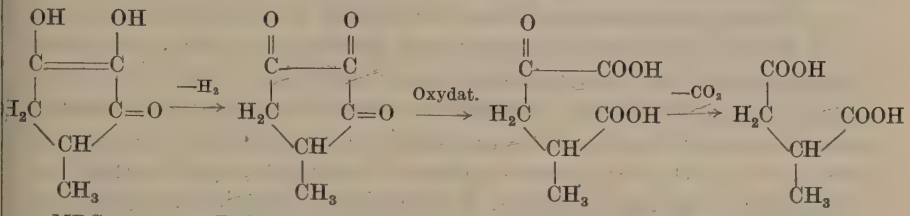
Zur Bestimmung der Ausscheidung benutzten wir die reduzierende Eigenschaft der MRS. Wir titrierten den Harn mit Methylenblau (20 mg pro Liter) nach Lund, nachdem wir vorher den Titer bekannter MRS-Konzentrationen im Kaninchenharn bestimmt hatten.

Bei Injektion von 120 mg MRS in die Ohrvene eines Kaninchens wurden nach 4 Std 28 mg, nach weiteren 4 Std noch einmal 8 mg im Harn wiedergefunden. Der Rest, mehr als zwei Drittel, konnte nicht wiedergefunden werden.

Es kann, auch gestützt durch die unten angeführten Versuche, angenommen werden, daß die MRS im Körper durch Oxydation schnell zerstört wird, so daß sie dem Nachweis (Reduktionsfähigkeit) im Harn zum Teil verloren geht.

Für die Zerstörung der MRS im Organismus können wir den gleichen oxydativen Abbau annehmen, den Hesse und Böckmann in vitro mit Silberoxyd nachgewiesen haben.

Zunächst geht die MRS irreversibel unter Wasserstoffabgabe in das Triketon (Dehydro-MRS) über. Bei der Askorbinsäure verläuft dieser Vorgang in Anwesenheit von Reduktionsmitteln reversibel (Abderhalden). Das Triketon wird hydrolytisch zur Methylketoglutarsäure aufgespalten und diese zu Methylbernsteinsäure dekarboxyliert.



Der Nachweis von Methylbernsteinsäure im Harn ist bisher noch nicht durchgeführt.

Wirkung auf das Blut.

a) *Erythrozyten-Resistenz.* In vitro vermindert die MRS die Resistenz der Erythrozyten.

Tabelle 1.

	Anfang der Hämolyse	Ende der Hämolyse
normal Blut	0,40% NaCl	0,32% NaCl
Blut + 1% MRS	0,52% NaCl	0,44% NaCl

Diese Resistenzverminderung tritt in vivo jedoch nicht ein. Nach Injektion von 70 mg/kg MRS wurde einem Kaninchen nach 10 und 60 min Blut entnommen und die Resistenz der Erythrozyten bestimmt. Die Hämolyse fing bei 0,44% NaCl an und war bei 0,32% NaCl vollständig, was den Normalwerten bei Kaninchen durchaus entspricht. Auch eine nur kurz dauernde Resistenzverminderung kann nicht angenommen werden, da beim Zentrifugieren von Blut normaler und mit MRS behandelter Kaninchen das überstehende Serum beider Proben farbgleich hellgelb gefunden wurde. Dies schließt eine intravasale Hämolyse aus.

b) *Reduktion des Hämoglobins.* Wird in vitro zu Blut, das mit 0,9% NaCl-Lösung verdünnt ist, MRS hinzugefügt, so tritt keine Reduktion des Hämoglobins ein.

Setzt man nun den Proben 0,1% Saponin zu, so wird das aus den Erythrozyten ausgetretene Oxy-Hämoglobin durch MRS sofort deutlich reduziert, während die Kontrollen unverändert bleiben. Die Reduktion ist spektroskopisch nachweisbar.

Es zeigt sich also, daß die MRS in vitro wohl die Resistenz der Erythrozyten vermindern kann, jedoch nicht imstande ist, die Erythrozyten-Membran zu durchdringen.

Wirkung auf Herz und Kreislauf.

a) *Frosch.* Am isolierten Froschherzen nach Straub vermindert die MRS die Hubhöhe des Ventrikels und gleichzeitig seine diastolische Entspannung. Dies kann bei entsprechender Dosierung bis zum Herzstillstand in Mittelstellung fortgeführt werden. Die Wirkung ist wahrscheinlich eine reine Säurewirkung und kann durch Zugabe von etwas Serum oder auch durch ausgewaschene Erythrozyten (Abb. 1a) sofort vollständig aufgehoben werden. Entsprechende Natriumkarbonat-Zugabe oder Phosphat-Puffer-Ringer heben die Wirkung jedoch nicht so eindrucksvoll auf (Abb. 1b).

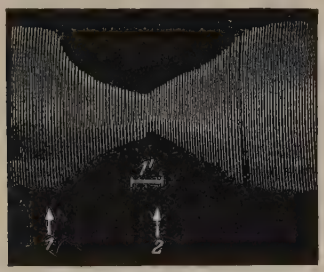


Abb. 1 a.
Bei 1 = 15 γ MRS; 2 = Serum.

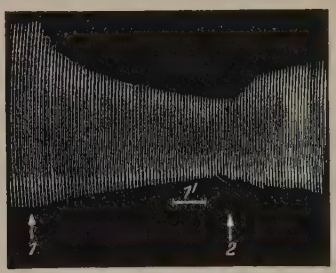


Abb. 1 b.
Bei 1 = 15 γ MRS; 2 = Phosphatpuffer.

Am isolierten Froschgefäßpräparat nach Läwen-Trendelenburg zeigt die MRS in seltenen Fällen eine geringe Erhöhung der Durchflußmenge, die ohne Bedeutung ist.

b) *Warmblüter.* Wir haben die MRS (150 mg) vor dem Herzen in die Vena cava superior injiziert und sahen keine Veränderung der Herzaktionen. Ebenso erfolgte beim Herz-Lungen-Präparat nach Starling keine Veränderung des Minutenvolumens nach Zugabe bis zu 150 mg MRS.

In Blutdruckversuchen am Warmblüter (Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen) ist die MRS in kleinen Dosen ohne Wirkung. Bei Dosen über 10 mg/kg kommt es zu einer leichten und flüchtigen Blutdrucksenkung.

Stabilisierung von Adrenalin.

Für die Askorbinsäure konnte Abderhalden[1] nachweisen, daß sie die Adrenalinzerstörung in Phosphatpufferlösungen hemmt. Umgekehrt fand Yamamoto[12], daß Adrenalin die Askorbinsäure stabil erhält. Diese

Wirkungen sind auf die Reduktionsfähigkeit beider Substanzen zurückzuführen. Die hohe Reduktionskraft der MRS legte es nahe, auch eine solche stabilisierende Wirkung auf Adrenalin zu untersuchen.

Die sauren, vor allem salzsauren Lösungen von Adrenalin sind, auch an der Luft, lange beständig[9]. Deshalb verwendeten wir Adrenalinlösungen, die mit n/10 NaOH etwa auf p_H 8,4—8,7 eingestellt waren. Die p_H-Werte bestimmten wir mit Thymolblau aus dem Tüpfelbesteck nach Tödt (Fa. Leitz). Alle Lösungen enthielten 1 mg/cm³ Adrenalin. Einem Drittel der Lösungen wurde MRS äquimolar zu Adrenalin, dem zweiten Drittel äquimolare Askorbinsäure zugesetzt, der Rest wurde als Kontrollen verwendet.

Die Wirksamkeit des Adrenalins wurde am Blutdruck der dekapitierten Katze getestet.

Tabelle 2.

	Wirkungsverlust in Tagen	
	50%	100%
Adrenalin ohne Zusatz	1	3
Adrenalin + MRS äquimol.	7	18
Adrenalin + Asc. Säure äquimol.	6	20

Die MRS hemmt also in ähnlicher Intensität wie Askorbinsäure den Adrenalinabbau im alkalischen Milieu.

Im sauren Milieu wird Adrenalin durch Bernsteinsäure (Marquard[8]) zerstört. Die Wirkung wird auf die Bildung von Aldehyden und deren Peroxyde zurückgeführt, wie Wense[11] es für den Azetaldehyd nachgewiesen hat.

Für den Ansatz benützten wir 5%ige Bernsteinsäure-Lösungen, die ebenfalls 1 mg/cm³ Adrenalin enthielten. MRS und Askorbinsäure wurden, wie in den obigen Versuchen, äquimolar zugesetzt.

Die Adrenalin-Inaktivierung durch Bernsteinsäure geht erheblich langsamer einher als die in alkalischem Milieu. Die Adrenalin-Bernsteinsäure-Lösung ohne Zusatz zeigte erst am 7. Tag einen Wirkungsverlust von 15—20% (Abb. 2).

Abb. 2. Katze dekapit. 2100 g, 1 = 3γ Adrenalin + Ascorbinsäure in Bernsteinsäure, 2 = 3γ Adren. + MRS in Bernsteinsäure, 3 = 3γ Adren. in Bernsteins. ohne Zusatz, 4 = 3γ Adrenalin, neue Lösung. Zeit: 30 sec.

Auch in Gegenwart von Bernsteinsäure schützt die MRS ebenso wie die Askorbinsäure das Adrenalin vor Zerstörung.

Verstärkung der Adrenalinwirkung.

Kreitmair[6] beschrieb eine Verstärkung der Adrenalin-Blutdruck-Wirkung durch Askorbinsäure. In unseren Versuchen gelang die Erhebung dieses Befunds nicht immer. Die Mehrzahl der Tiere (5 Katzen) reagierten auf gleichzeitige Gabe von 1 γ Adrenalin und 10 mg Askorbinsäure gar nicht oder nur unerheblich mit einer verstärkten Blutdruckwirkung. Nur 3 Tiere zeigten den Effekt Kreitmairs deutlich.

Es ist interessant, daß die gleichen Tiere, die auf Askorbinsäure nicht reagierten, auch mit MRS in gleichen Dosen keine Erhöhung der Adrenalin-Blutdruckwirkung machten. Die 3 Tiere jedoch, die den Kreitmair-Effekt zeigten, ließen auch eine Verstärkung der Adrenalinwirkung durch MRS zu. Dabei dauert der Einfluß der Askorbinsäure länger an und beeinflußt auch noch nachfolgende Injektionen, wie Kreitmair schon beschrieb. Die MRS-Wirkung beschränkt sich jedoch auf die gerade ausgeführte Injektion und wirkt auf die nächste nicht mehr nach. Bei diesen Tieren senkte die Gabe von Askorbinsäure oder MRS ohne Zusatz den Blutdruck leicht.

Abb. 3. Isol. Kaninchendarm, 1 = 1γ Adrenalin, 3 = 1γ Adren. + 10 mg MRS, 2, 4 = Auswaschen.

Viel ausgeprägter ist die Verstärkung der Adrenalinwirkung durch MRS am isolierten Kaninchendarm (Abb. 3).

Clark und Geissman[2] benutzten die Erscheinung der Adrenalinverstärkung am Kaninchendarm geradezu als Test für eine „Vitamin-P-ähnliche" Wirkung. Sie fanden diese Wirkung bei vielen Flavonol-, Flavon- und Flavanonderivaten, sowie bei Askorbinsäure, Zystein, BAL und Gluthation. Diese Wirkung wird allgemein auf die allen diesen Stoffen gemeinsame Reduktionsfähigkeit zurückgeführt. Kühnau[7] bezeichnet die Adrenalinverstärkung am Kaninchendarm als unspezifisch und *nicht* als Vitamin P-Wirkung.

Versuche am Meerschweinchen-Skorbut.

Auf die Beseitigung der Skorbut-Symptome, die an mit Vitamin-C-freier Diät ernährten Meerschweinchen auftreten, hat die MRS *keine* Einwirkung. Der Gewichtsverlust der Meerschweinchen ist nicht aufzuhalten. Sie scheinen zwar die nicht behandelten Tieren um einige Tage zu überleben, doch ist der Unterschied nicht signifikant.

Adrenalinwirkung bei skorbutischen Meerschweinchen.

KASAHARA und Mitarbeiter[5] veröffentlichten Versuchsergebnisse, wonach Adrenalin bei voll ausgebildetem Skorbut bei Meerschweinchen im Blutdruckversuch nicht mehr wirksam ist. Die Wirkung kehrt erst nach Askorbinsäure-Zufuhr zurück.

Diesen Befund konnten wir nicht in vollem Umfang bestätigen. Von 20 skorbutischen Meerschweinchen reagierten 18 ohne weiteres auf Adrenalin (Abb. 4a) und verstärkten diese Wirkung nach Askorbinsäure nur unwesentlich. Nur bei 2 Tieren (Abb. 4b) fanden wir das Adrenalin unwirksam. Hier kehrte auch nach MRS-Zugabe die Adrenalin-Ansprechbarkeit sofort zurück.

Bei 4 Tieren sahen wir nach der ersten Adrenalin-Injektion eine ständige Erhöhung des Blutdrucks um den der Adrenalinmenge ent-

a b c

Abb. 4a. Skorbut-Meerschweinchen 190 g, 0,1 Urethan 1,2 = 1γ Adrenalin. Zeit: 10 sec.
Abb. 4b Skorbut-Meerschweinchen 170 g, 0,09 Urethan 1 = 1γ Adrenalin 2 = 1γ Adrenalin + 10 mg MRS. Zeit: 30 sec.
Abb. 4c. Ebenso 195 g, 0,1 = 2γ Adrenalin, 2 = 1γ Adrenalin. Zeit: 30 sec.

sprechenden Wert (Abb. 4c). Die darauffolgenden Blutdruckerhöhungen durch weitere Adrenalingaben kehrten immer auf den neuen Wert zurück.

Besprechung der Ergebnisse.

Die bis jetzt bekannten Wirkungen der MRS sind durch ihre außerordentliche Reduktionsfähigkeit bedingt. Der Befund, nach dem die MRS die Erythrozyten-Resistenz nur in vitro und nicht in vivo vermindert, erklärt sich aus der schnellen Oxydation der MRS und dem damit verbundenen Verlust der reduzierenden Eigenschaft im Organismus.

Die Versuche, einen Vergleich zwischen der MRS- und der Askorbinsäure-Wirkung aufzustellen, haben ergeben, daß die MRS in allen Fällen die Askorbinsäure quantitativ zu ersetzen vermag, in denen die Askorbinsäure nur durch ihre Reduktionsfähigkeit wirkt. Dies gilt für die Stabilisierung des Adrenalins in alkalischen und in bernsteinsauren Lösungen sowie für die Verstärkung der Adrenalinwirkung am Blutdruck und isolierten Kaninchendarm.

Wenn aber die spezifische Vitamin-C-Wirkung der Askorbinsäure in Betracht gezogen wird, dann erweist sich die MRS als Ersatz wirkungslos. Interessant ist der Befund, daß die von Kasahara beschriebene Adrenalinunwirksamkeit im Endstadium des experimentellen Meerschweinchen-Skorbut von uns nur in 10% unserer Fälle gefunden werden konnte. In diesen seltenen Fällen vermag dann allerdings die MRS genau so wie die Askorbinsäure dem Adrenalin zur vollen Wirksamkeit zu verhelfen. Die Deutung dieses Befunds ist uns noch unklar. Es drängt sich jedoch der Vergleich mit der Unsicherheit des Kreitmair-Effekts auf, bei dem es uns auch nur in den selteneren Fällen gelungen ist, die Wirkung des Adrenalin auf den Blutdruck durch Askorbinsäure zu verstärken. Nach allem möchten wir annehmen, daß der Verlust der Adrenalinwirkung beim Meerschweinchen-Skorbut nur ein Rand-Symptom darstellt, das sich bei einzelnen Tieren einstellen kann, denen außer der Askorbinsäure auch noch andere körpereigene Stoffe mit Reduktionswirkung fehlen.

Die „Vitamin-P-ähnliche" Wirkung der MRS am isolierten Kaninchendarm ist sicher unspezifisch, hat doch die MRS diese Wirkung mit einer ganzen Reihe Stoffe gemeinsam, deren einzige gemeinsame chemische Eigenschaft ihre mehr oder minder hohe Reduktionsfähigkeit ist.

Zusammenfassung.

1. Die MRS vermindert in vitro die Erythrozyten-Resistenz und reduziert nach Saponinhämolyse das Hämoglobin.

2. Sie stabilisiert Adrenalin in alkalischen und bernsteinsauren Lösungen.

3. Die Adrenalinwirkung am Blutdruck wird durch MRS in einigen Fällen verstärkt, in anderen nicht. Sie wirkt hier genau wie Askorbinsäure. Am isolierten Kaninchendarm wird die Adrenalinwirkung sicher verstärkt.

4. Zur Beseitigung der Skorbutsymptome am Meerschweinchen ist MRS nicht imstande.

5. MRS beseitigt wie Askorbinsäure den selten vorhandenen Adrenalin-Wirkungs-Verlust im Endstadium des Meerschweinchen-Skorbuts.

Literatur.

[1] Abderhalden: Fermentforschg **14**, 367 (1934). — [2] Clark u. Geissman: J. Pharm. exper. Therap. **95**, 363 (1949). — [3] Hesse u. Reicheneder: Annalen d. Chemie **526**, 261 (1936). — [4] Hesse u. Böckmann: Annalen d. Chemie **563**, 37 (1949). — [5] Kasahara, Niscitawa u. Hirao: Klin. Wschr. **16**, 1618 (1937). — [6] Kraitmair: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 326 (1934). — [7] Kühnau: Mercks Jahresbericht **61/62**, 8 (1947/48). — [8] Marquard: Klin. Wschr. **17**, 1445 (1938). — [9] Môller u. Schou: Dansk. Tids. f. Farm. **16**, 121 (1942). — [10] Öttel: Pharmazie **2**, 385 (1947). — [11] Wense: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **191**, 358 (1939). — [12] Yamamoto: Hoppe-Seylers Z. **243**, 266 (1936).

Dr. Günter Grupp, Freiburg i. Br., Katharinenstr. 29,
Pharmakol. Institut d. Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 207—234 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(dermaliger Direktor: Prof. Dr. E. P. Pick*).

Pharmakologische Untersuchungen über neue Sympatolabkömmlinge.

Von
Klaus Unna**.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. August 1950).

Der experimentellen Erforschung des *Sympatols*[1–7] und des *Adrianols* (*Meta-Sympatol*)[8–11], für die an erster Stelle die Arbeiten von Paul Trendelenburg und seiner Schule grundlegend geworden sind, verdanken wir eine genaue Analyse der Kreislaufwirkung dieser Körper und ihre sorgfältige Abgrenzung gegenüber Adrenalin und anderen Vertretern der Phenylalkylamine.

In den Laboratorien von C. H. Boehringer-Nieder-Ingelheim wurde eine größere Zahl von Aminen mit *einer* phenolischen Hydroxylgruppe hergestellt, die sich vom Sympatol (para-Oxyphenylaethanolmethylamin) oder Adrianol (meta-Sympatol, meta-Oxyphenylaethanolmethylamin) durch die Substitution am Stickstoff mit *Äthyl*, *Propyl* oder *Butyl* anstatt mit *Methyl* unterscheiden (vgl. nachstehende Strukturformeln). Zur Vermeidung allzu langatmiger Namen werden im folgenden die vom Sympatol abstammenden Glieder der Reihe kurz als Äthyl-, Propyl- und Butyl-Sympatol, diejenigen der Adrianol-Reihe als Äthyl-, Propyl- und Butyl-Adrianol bezeichnet. Die Propyl- und Butylreste waren die *normalen*.

Die Basen standen mir als razemische Produkte in Form ihrer Hydrochloride oder Tartrate krystallisiert zur Verfügung, mit Ausnahme des Propyl-Adrianols, das in 10%iger wäßriger Lösung geliefert wurde. Sämtliche Salze sind leicht wasserlöslich und behalten in den Lösungen auch nach Wochen ihre volle Wirksamkeit. Auf eine genaue molare Dosierung der verschiedenen Körper wurde auch bei Vergleichen ihrer Wirksamkeit untereinander verzichtet, da ihre Molekulargewichte höchstens um 20% voneinander abweichen.

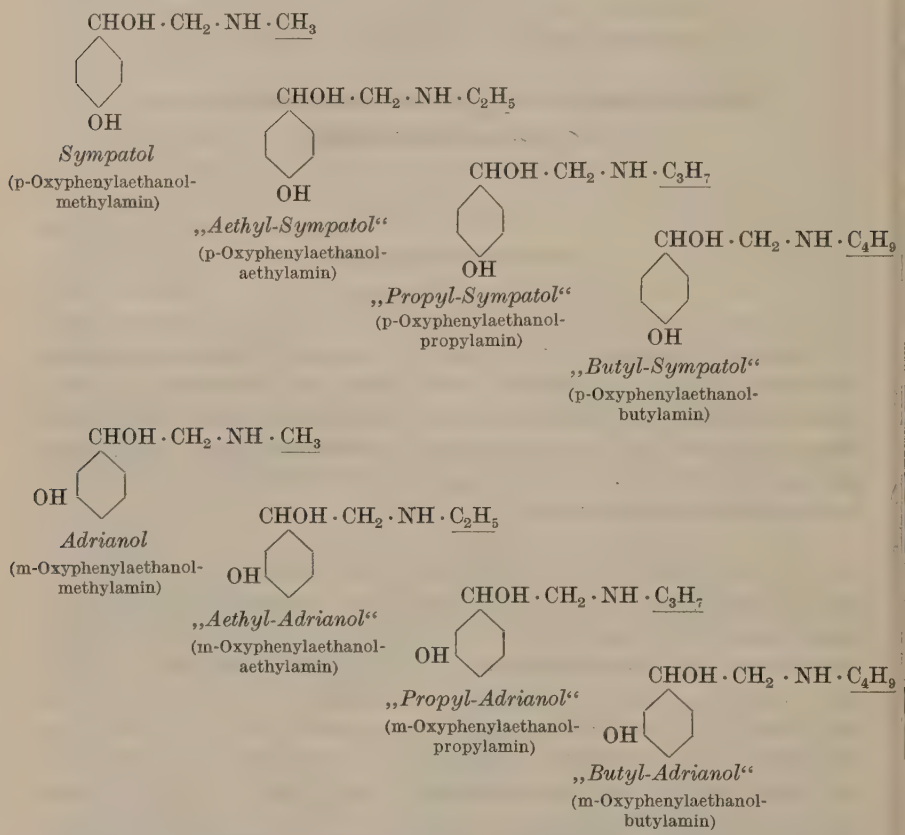
Bei der pharmakologischen Prüfung dieser Substanzen wurden die wohlcharakterisierten *pharmakologischen* Eigenschaften des Sympatols als Ausgangspunkt und Vergleichsmaßstab herangezogen, außerdem

---

* Diese Arbeit wurde im Jahre 1937 ausgeführt und gelangt aus äußeren Gründen erst jetzt zur Veröffentlichung.

** University of Illinois, College of Medicine, Department of Pharmacology, Chicago, Ill.

diejenigen des Adrianols und in einzelnen Fällen die des Adrenalins, Ephedrins und gelegentlich des Veritols.



Aus dem Vergleich der Derivate untereinander ergaben sich manche Hinweise auf die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und Wirkung. In dieser Hinsicht knüpfen die Versuche an die bekannte Arbeit von Barger und Dale[12] an, welche durch planmäßige Untersuchung von homologen Reihen Beziehungen zwischen chemischer Struktur und biologischer Wirkung in dieser Körperklasse aufdeckten. Durch die umfassenden Arbeiten von Chen und Mitarbeitern[13], Hasama Bun Ichi[14] und Schaumann[15] sind die Ergebnisse von Barger und Dale bestätigt und erweitert worden.

Versuchsergebnisse.

1. Toxizität.

Die Toxizität wurde an weißen Mäusen im Gewicht von 14—22 g geprüft, denen unter die Rückenhaut 2—5%ige Lösungen gespritzt wurden, so daß die Injektionsmenge 1 ccm nicht überstieg.

Die ersten Vergiftungserscheinungen zeigten sich nach Ablauf von 10 min in zunehmender Unruhe der Tiere, Beschleunigung der

Atmung und tonisch-klonischen Krämpfen, die mit Unterbrechungen oft über eine halbe Stunde dauerten. Den Krampfanfällen folgten bei letalen Dosen Lähmungserscheinungen mit starker Verlangsamung der Atmung; die Tiere fielen in Rücken- oder Seitenlage, zeigten eine starke inspiratorische Dyspnoe und gingen in spätestens zwei Stunden an Atemlähmung zugrunde. Von untertödlichen Dosen, die nicht bis zu Lähmungserscheinungen führten, erholten sich die Tiere trotz schwerer Krämpfe rasch. Diese Vergiftungserscheinungen waren bei allen Körpern der Sympatol- wie Adrianolreihe fast vollkommen gleichartig. Die Unterschiede der Wirksamkeit gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1. *Toxizität an weißen Mäusen bei subkutaner Injektion.*

Dosis	Sympatol		Äthyl-Sympatol		Propyl-Sympatol		Butyl-Sympatol	
mg/g	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt
0.2					0	8	0	5
0.3					3	7	5	5
0.4					4	6	13	2
0.6					8	2		
0.8	0	10	1	9				
1.0	17	15	14	13				
1.2	14	2	12	8				
Dosis	Adrianol		Äthyl-Adrianol		Propyl-Adrianol		Butyl-Adrianol	
mg/g	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt
0.2							1	9
0.3					0	10	5	5
0.4					3	12	6	4
0.6			1	14	5	5	10	0
0.8	0	10	8	7	8	2		
1.0	5	5	8	2				
1.2	8	2						

Die hier angeführten tödlichen Dosen von 1.0—1.2 mg/g für Sympatol und Adrianol stimmen gut mit den Werten von Kuschinsky[3] bzw. Kuschinsky und Oberdisse[8] überein. Verglichen mit Sympatol und Adrianol sind die Äthylderivate nicht oder nur wenig giftiger; die Giftigkeit nimmt bei den Propyl- und Butylkörpern weiter zu und zwar in beiden Reihen in annähernd gleicher Weise, so daß Butyl-Sympatol und Butyl-Adrianol an weißen Mäusen dreimal giftiger sind als Sympatol bzw. Adrianol.

Etwa den gleichen Wirksamkeitsunterschied zwischen den Anfangs- und Endgliedern der homologen Reihen fanden wir auch an Kaninchen bei intravenöser Injektion; so betrug z. B. die tödliche Dosis von Butyl-Sympatol auch hier weniger als die Hälfte der Sympatoldosis. Die Herztätigkeit überdauerte die Atmung, so daß auch an Kaninchen Atemlähmung die unmittelbare Todesursache war.

2. Blutdruckwirkung.

Die Blutdruckwirkung der Derivate untersuchten wir in insgesamt 40 Versuchen an Kaninchen, Hunden und vornehmlich an Katzen, zum Teil am intakten Tier in Narkose (mit Äther, Morphin-Chloralose oder Urethan-Chloralose) oder bei Katzen auch nach Dekapitierung und Zer-

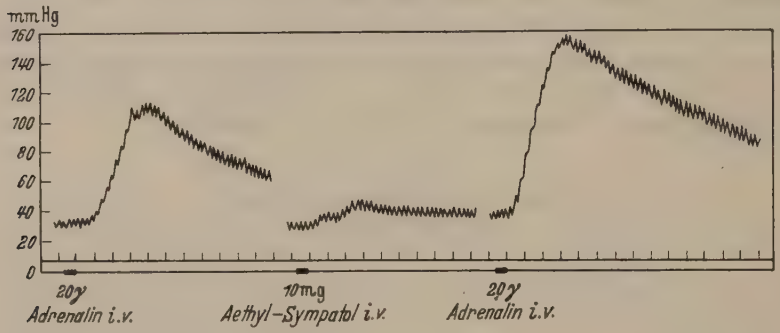


Abb. 1. Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Äthyl-Sympatol. Katze 3,6 kg, dekapitiert. Zeitmarken 10 Sekunden.

störung des Rückenmarkes. Die Blutdruckwirkungen stimmten bei den verschiedenen Narkosearten weitgehend überein und wurden auch durch die Ausschaltung aller zentral-nervösen Regulationen nicht nennenswert verändert.

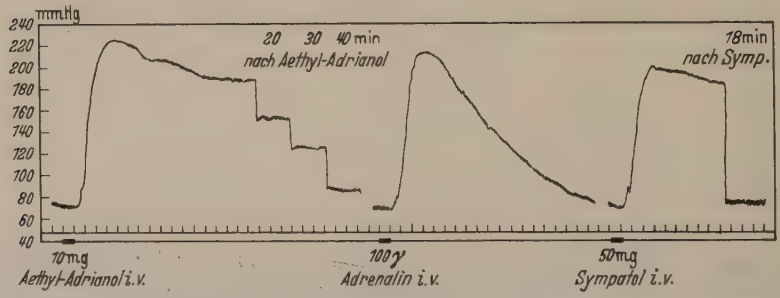


Abb. 2. Vergleich der Blutdruckwirkung und ihrer Dauer von Äthyl-Adrianol, Adrenalin und Sympatol. Katze 2,9 kg, dekapitiert. Zeitmarken 10 Sekunden.

Äthyl-Sympatol steigerte den Blutdruck nicht oder nur unwesentlich. Wenn überhaupt eine Blutdruckwirkung erkennbar war, so äußerte sie sich (siehe Abb. 1) in einem geringfügigen, aber langdauernden Anstieg um 10—20 mm Hg. Durch Vergrößerung der Dosen konnten keine stärkeren Erhöhungen erzielt werden. Wurde Adrenalin zu Kontroll- und Vergleichszwecken injiziert, so war seine Blutdruckwirkung nach Verabfolgung von Äthyl-Sympatol meist beträchtlich gesteigert (siehe Abb. 1). Diese Adrenalinverstärkung, die das Äthyl-Sympatol sowohl

am intakten Tier als auch an dekapitierten Katzen bewirkte, konnten wir nach keinem der anderen Derivate beobachten. Auf welchem Weg sie zustande kommt, blieb unklar.

Munch und Hartung[16] haben eine ähnliche Steigerung der Adrenalinblutdruckwirkung nach p-Oxynorephedrin beschrieben; auch für ihre Beobachtung fehlt eine zureichende Erklärung.

Propyl-Sympatol war am Blutdruck meist unwirksam, gelegentlich beobachteten wir geringfügige Senkungen. *Butyl-Sympatol* dagegen senkte stets den Blutdruck, und dieser ziemlich langanhaltende Blutdruckabfall nahm entsprechend der Steigerung der Dosis zu.

Äthyl-Adrianol war der einzige, stark blutdrucksteigernde Körper. Die Schwellendosis lag bei Katzen (Gewicht 2—3 kg) zwischen 0,2 und

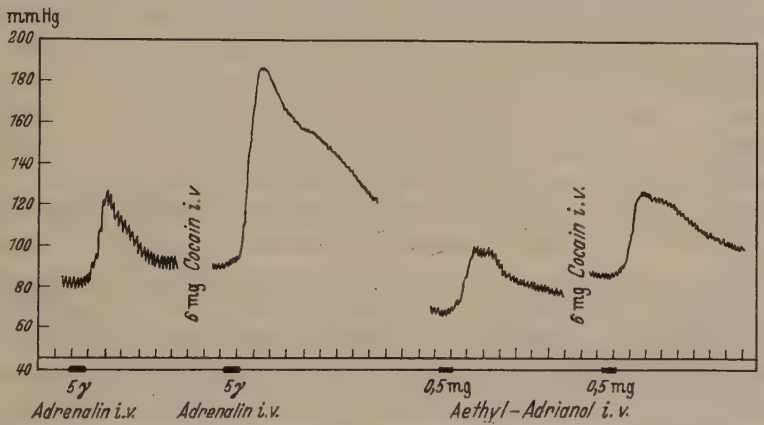


Abb. 3. Blutdruckwirkung von Adrenalin und Äthyl-Adrianol vor und nach Kokain. Katze 2,7 kg, dekapitiert. Zeitmarken 10 Sekunden.

0,5 mg intravenös. Die Blutdrucksteigerung, die bei 0,5 mg oft schon sehr deutlich ausgeprägt ist (vgl. Abb. 3), trat bei wiederholter Injektion stets in gleicher Weise wieder auf; ihr Ausmaß war von der Dosierung abhängig.

Vergleicht man die Wirkung von Äthyl-Adrianol mit Adrenalin und Sympatol, so ergeben sich die in Abb. 2 dargestellten Unterschiede: Das Kurvenbild nach Äthyl-Adrianol ähnelt sehr dem nach Sympatol, die Wirkung ist nur wesentlich nachhaltiger. Nach annähernd gleich blutdrucksteigernden Dosen erreicht der Blutdruck auf 0,1 mg Adrenalin schon nach 4 min, auf 50 mg Sympatol nach 18 min und auf 10 mg Äthyl-Adrianol erst nach mehr als 40 min wieder sein Ausgangsniveau. Dabei ist die Dosis von Äthyl-Adrianol gegen Sympatol wie 1:5.

Diese Überlegenheit des Äthyl-Adrianols konnte in zahlreichen weiteren Versuchen an Hunden und Katzen immer wieder festgestellt werden; bei gleichstarker Blutdruckwirkung betrug der Dosenunterschied stets 1 : 3 bis 1: 5. Da die Blut-

drucksteigerung nach Äthyl-Adrianol in gleicher Weise an intakten wie dekapitierten und rückenmarklosen Katzen eintritt, so kann es sich wie bei Adrenalin und Sympatol nur um eine direkt auf die Gefäße gerichtete Wirkung handeln.

Um die Wirkungsweise näher zu charakterisieren, untersuchten wir das Äthyl-Adrianol am Katzenblutdruck nach Vorbehandlung mit Kokain oder Ergotamin. In den Kokainversuchen, in denen Adrenalin stets eine bedeutende Wirkungssteigerung erfuhr, konnten wir eine Verstärkung der Wirkung von Äthyl-Adrianol nicht oder nur in geringem Ausmaß feststellen (siehe Abb. 3). Es verhält sich ähnlich wie Sympatol, das in unseren Versuchen gleichfalls nur unwesentlich durch Kokain verstärkt wurde.

Diese für Sympatol bereits von Tainter und Seidenfeld[7] gemachte Beobachtung steht in Widerspruch zu den Versuchen von Kuschinsky, in denen Kokain die Sympatol-Blutdruckwirkung verstärkt (Kuschinsky[3] S. 295).

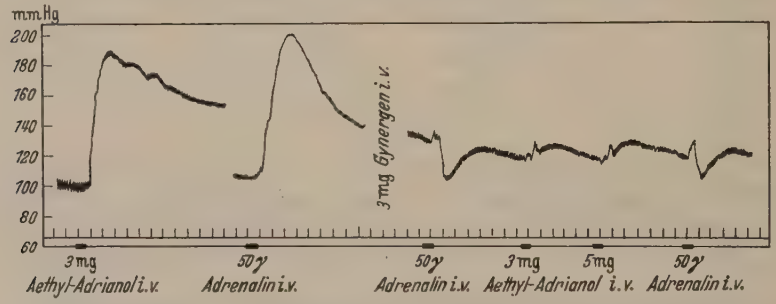


Abb. 4. Blutdruckwirkung von Äthyl-Adrianol und Adrenalin vor und nach Ergotamin. Katze 2,8 kg, dekapitiert, Rückenmark ausgebohrt. Zeitmarken 10 Sekunden.

Ergotamin schwächte den Blutdruckanstieg durch Äthyl-Adrianol weitgehend ab. Im Versuch der Abb. 4 ist die blutdrucksteigernde Wirkung von 3 mg Äthyl-Adrianol nach der Vorbehandlung mit 3 mg Gynergen fast aufgehoben. Eine einwandfreie Umkehr, d. h. Senkung, ließ sich in den Ergotaminversuchen ausschließlich mit Adrenalin erzielen. Auch hierin stimmt das Verhalten des Äthyl-Adrianols weitgehend mit dem des Sympatols überein.

Propyl-Adrianol erwies sich als blutdruckunwirksam; *Butyl-Adrianol* senkte den Blutdruck und ähnelte darin dem Butyl-Sympatol, dem es aber an Wirkungsstärke unterlegen war.

Überblicken wir die Blutdruckwirkungen der untersuchten Körper, so zeigt sich, daß in beiden homologen Reihen die Blutdrucksteigerung des Sympatols oder Adrianols abnimmt und bei den Butylderivaten in Blutdrucksenkung umschlägt. In der Sympatolreihe hat bereits Äthyl-Sympatol keine steigernde Wirkung mehr; in der Adrianolreihe hört die blutdrucksteigernde Wirkung erst beim Propyl-Adrianol auf. Äthyl-Adrianol ist dagegen noch ausgezeichnet blutdruckwirksam, wenn auch

in viel geringerem Grade als das dem Adrenalin in der Wirkungsstärke am nächsten kommende Adrianol (Meta-Sympatol). Von Adrenalin ist Äthyl-Adrianol nicht nur in der Dosierung und im Wirkungsablauf, sondern auch qualitativ in seinem Verhalten gegenüber Kokain und Ergotamin unterschieden.

Die Übereinstimmung im Verlauf der Versuche am intakten Tier und nach Ausschalten der zentralnervösen Einflüsse weist darauf hin, daß die beobachteten Blutdruckänderungen durch unmittelbare Wirkung auf die Gefäße bedingt sind.

3. Gefäßwirkung.

a) *Versuche am isoliert durchströmten Kaninchenohr.* Durchströmungsflüssigkeit: NaCl 0,9%, KCl 0,042%, $CaCl_2$ 0,024% und $NaHCO_3$ 0,03%; Anordnung nach Krawkow-Pissemski[17]. Die Sympatol- und Adrianolderivate wurden in den Zuführungsschlauch injiziert, die Reaktionsfähigkeit jedes Präparates mit Adrenalin kontrolliert.

Äthyl-Sympatol verengerte in Dosen von 50—100 γ die Gefäße deutlich. Mit *Propyl-* und *Butyl-Sympatol* ließen sich keine eindeutigen Wirkungen erzielen; geringfügigen Erweiterungen standen in zahlreichen Fällen leichte Gefäßverengerungen gegenüber.

Äthyl-Adrianol wirkte stets schon in sehr kleinen Dosen stark gefäßkonstringierend. Da die Durchströmung mit Ringer erfolgte und die Wirkstoffe mit der Spritze unmittelbar vor der Arterienkanüle der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt wurden, so ließen sich Vergleiche nur durch Bestimmung der Schwellendosis durchführen. Dabei zeigte sich regelmäßig, daß Äthyl-Adrianol schon in Dosen von 0,1—0,2 γ deutliche Gefäßverengerungen bewirkte, Sympatol aber erst bei 0,3 bis 0,5 γ. *Propyl-* und *Butyl-Adrianol* hatten ebensowenig wie die entsprechenden Glieder der Sympatolreihe eindeutige Gefäßwirkungen.

b) *Versuche an durchströmten Hinterextremitäten von Hunden.*

In (insgesamt 8) Versuchen wurden die Hinterextremitäten entweder *direkt* von dem am gleichen Hund hergestellten Herz-Lungenkreislauf aus durchströmt, oder mittels einer Dale-Schuster-Pumpe, während das Herz-Lungenpräparat des Hundes nur der Arterialisierung des defibrinierten Blutes diente. In der erstgenannten Anordnung waren — da der Durchströmungsdruck vom Herz-Lungenpräparat her konstant blieb — Widerstandsänderungen im Gefäßgebiet nur an der Änderung des venösen Ausflusses erkennbar, welcher fortlaufend mit einem Rösslerschen Ausflußschreiber registriert wurde. In den Versuchen mit der Dale-Schuster-Pumpe dagegen kommt jede Änderung der Gefäßweite in einer Änderung des Durchströmungsdruckes zum Ausdruck. Außerdem wurde auch in dieser Anordnung fallweise der venöse Ausfluß registriert. Um Fehler durch etwaige Empfindlichkeitsänderungen des Präparates auszuschließen, wurden die einzelnen Körper wiederholt geprüft und Vergleiche stets nur am gleichen Präparat durchgeführt. Beide Durchströmungsverfahren zeitigten grundsätzlich übereinstimmende

Resultate; der Kürze halber sollen im folgenden vornehmlich die Ergebnisse der Versuche mit der Pumpendurchströmung geschildert werden.

Abb. 5 zeigt die Gefäßwirkungen der Abkömmlinge der Sympatolreihe bei mittlerer Tonuslage der Extremitätengefäße: *Äthyl-Sympatol* verengert die Gefäße leicht (Drucksteigerung), *Propyl-Sympatol* erweitert nach anfänglicher Verengung, *Butyl-Sympatol* bewirkt lediglich Erweiterung. (Die Empfindlichkeit des Präparates hat sich dabei nicht verändert, vgl. A und D in Abb. 5). Nach kräftiger und anhaltender Gefäßverengerung durch 4 mg Veritol mit beträchtlicher Steigerung

Abb. 5.

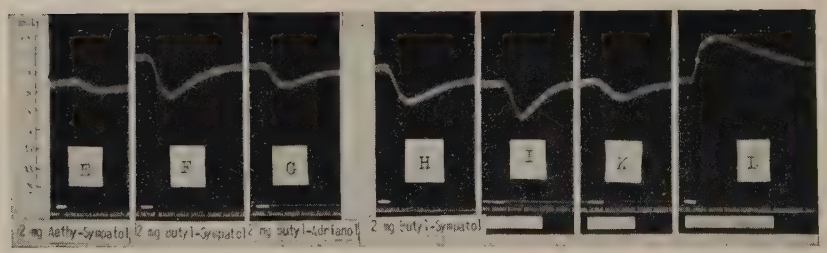


Abb. 6.

Abb. 5 und 6. Durchströmung der Hinterextremitäten eines Hundes (8 kg) mittels Dale-Schuster-Pumpe. Registrierung des Durchströmungsdruckes mit Hg Manometer. Zwischen Abb. 5 und 6 wurden die Gefäße durch Injektion von 4 mg Veritol stark tonisiert, die Pumpeneinstellung blieb während des ganzen Versuches unverändert. Zeitmarken 1 Sekunde. Injektionen A-L siehe Text.

des Durchströmungsdruckes ergibt Äthyl-Sympatol (siehe Abb. 6 bei E) jetzt keine verengernde, sondern eine schwach erweiternde Wirkung ein Befund, den wir auch in anderen Versuchen bestätigen konnten. Die Wirkung von Butyl-Sympatol blieb unverändert (vgl. Abb. 6 bei F und Abb. 5 bei C). Gefäßerweiterung schwächeren Grades erzielt auch *Butyl-Adrianol* (Abb. 6 G gegen F und H). Durch die Tonisierung des Präparates wurde demnach qualitativ nur die Wirkung von Äthyl-Sympatol verändert. Diese Reaktionsunterschiede infolge Tonisierung sind, wie wir besonders hervorheben möchten, unabhängig von dem

Mittel, welches zur Tonisierung verwendet wurde (außer Veritol, Pituitrin, Sympatol oder Äthyl-Adrianol).

Anders ist die gefäßerweiternde Wirkung des Ephetonins und der darauffolgenden Veritolinjektion (siehe Abb. 6 bei I und K) zu werten. Veritol hatte bei der *ersten* Injektion (zwischen Abb. 5 und 6) eine starke Gefäßverengung ausgelöst, in ähnlicher Weise, wie wir es auch bei Erstinjektionen von Ephetonin oder Ephedrin beobachtet haben. Die *zweite* Injektion zeigte dann sowohl in diesem wie auch in anderen Versuchen eine *Umkehr* der Wirkung, wobei es gleichgültig war, ob die erste gefäßverengende Wirkung mit Ephetonin oder Veritol ausgelöst worden war. Ephetonin und Veritol konnten sich hierin wechselseitig vertreten.

Tabelle 2. *Hund 10,5 kg. Durchströmung der isolierten Hinterextremitäten vom Herz-Lungenpräparat des gleichen Hundes. Durchströmungsdruck 85 mm Hg konstant. Messung des venösen Ausflusses mit* Rösslerschem *Ausflußschreiber. Die angegebenen Werte sind 1 min nach der betreffenden Injektion gemessen.*

Injektion	Ausfluß aus der Vena iliaca communis (cm^3/min.)
	97
Äthyl-Adrianol 10 mg	13
Veritol 10 mg	55
Äthyl-Adrianol 10 mg	14
	70
Äthyl-Adrianol 10 mg	28
Äthyl-Sympatol 10 mg	64
Äthyl-Adrianol 10 mg	34
Ephetonin 20 mg	92

Äthyl-Adrianol war der einzige Körper in der Reihe, der unabhängig vom Kontraktionszustand der Gefäße und von vorangehenden Injektionen stets eine gefäßverengernde Wirkung hatte (siehe Abb. 6, L); Äthyl-Adrianol vermag auch die gefäßerweiternde Wirkung von Äthyl-Sympatol, Butyl-Sympatol, Butyl-Adrianol, sowie von großen Dosen Ephetonin und Veritol aufzuheben, und umgekehrt können diese Körper die Gefäßverengung nach Äthyl-Adrianol durchbrechen. Dies läßt sich auch anschaulich am Verhalten des venösen Ausflusses zeigen, wofür in Tabelle 2 ein Beispiel wiedergegeben ist. Wir sehen, daß der durch Äthyl-Adrianol stark verminderte Ausfluß durch Veritol, Äthyl-Sympatol und Ephetonin jedesmal beträchtlich gesteigert und durch neuerliche Äthyl-Adrianol-Gaben regelmäßig wieder gedrosselt wird.

Man könnte daran denken, daß der vermehrte venöse Ausfluß nach Äthyl-Sympatol, Ephetonin und Veritol auf einer Auspressung des Venensystems durch die genannten Stoffe beruht. Würde dies zutreffen, so müßte sich eine Verengerung des Venensystems in einer Steigerung des Durchströmungsdruckes äußern, während wir tatsächlich in solchen Fällen immer nur einen Abfall des Durchströmungsdruckes, also eine Abnahme des Gefäßwiderstandes und somit eine Gefäßerweiterung feststellen konnten.

Die Versuchsergebnisse am Durchströmungspräparat lassen sich zwanglos mit den Blutdruckwirkungen in Einklang bringen. Die am

Blutdruck wenig wirksamen Körper Äthyl- und Propyl-Sympatol, sowie Propyl-Adrianol haben auch am Gefäßpräparat nur unbedeutende, von der jeweiligen Tonuslage abhängige Wirkungen. Die Butylderivate beider Reihen erweitern entsprechend ihrer blutdrucksenkenden Wirkung die Gefäße des Durchströmungspräparates, während das regelmäßig drucksteigernde Äthyl-Adrianol die durchströmten Gefäße stets verengt und sich darin grundsätzlich von Ephetonin und Veritol unterscheidet. Wir können demnach aus den Ergebnissen am Durchströmungspräparat folgern, daß die Blutdruckwirkungen der untersuchten Substanzen *vornehmlich* auf Gefäßwirkung beruhen.

4. Herzwirkung.

Versuche am Herz-Lungenpräparat.

Methodik: In allen (insgesamt 28) Versuchen wurde das Starling sche Herz-Lungenpräparat an Hunden (von 8—12 kg) in Morphin (8 mg/kg) — Chloralose (8 cg/kg) — Narkose ausgeführt. Die Zufuhr des defibrinierten Hundeblutes vom venösen Reservoir zur Vena cava superior erfolgte durch eine weite Schlauchverbindung ohne Klemme, da die Änderungen des Blutangebotes zur Bestimmung des Suffizienzgrades des Herzens durch Heben und Senken des Reservoirs herbeigeführt wurden (Krayer).[18] Der Blutstand im venösen Reservoir war automatisch auf gleichbleibender Höhe eingestellt, so daß Änderungen im rechten Vorhofdruck unmittelbare Rückschlüsse auf die Herzleistungsfähigkeit erlauben.

Die arterielle Kanüle (10 mm lichte Weite) lag im Arcus aortae; eine Abzweigung ermöglichte die Messung des Aortendruckes mit einem Quecksilbermanometer. Der Druck in den Vorhöfen und in der Arteria pulmonalis wurde mit Wassermanometern und Volumschreibern registriert, das Stromvolumen in der Aorta mit einer Weese-Uhr aufgezeichnet und die Koronardurchblutung mit einer Morawitz-Kanüle und Ausflußschreiber nach Rössler gemessen.

Zur Bestimmung leistungsbessernder Wirkungen der Sympatol- und Adrianol-Abkömmlinge war es notwendig, das Herz künstlich zu schädigen. Dazu diente in den ersten Versuchen Numal, in allen weiteren Pernokton, das viel andauerndere und gleichbleibendere Schädigungen bewirkt. Das Pernokton wurde in Teildosen dem Blut langsam zugeführt und einige Minuten abgewartet, bis der gewünschte Schädigungsgrad konstant blieb. Kontrollversuche ergaben, daß derart gesetzte Schädigungen lange Zeit bestehenbleiben und niemals spontan zurückgehen.

Um die Bedingungen für Leistungsbesserungen möglichst günstig zu gestalten, war das Perikard in allen Versuchen erhalten (Rössler und Unna[19]); die Kanülen zur Vorhofdruckmessung wurden durch kleine Schlitze im Perikard, die Morawitz-Kanüle von der Vena cava inf. aus eingeführt.

a) *Wirkung der Sympatolderivate. Äthyl-Sympatol*, das am Blutdruck keine nennenswerte Wirkung zeigt, ist am künstlich geschädigten Herzen überaus wirksam. Abb. 7 gibt dafür ein Beispiel.

Bei I arbeitet das mit 0,5 cm³ Pernokton vergiftete Herz nahe an der Suffizienzgrenze: Erhöhung des Blutangebotes führt zu steilem Anstieg des rechten Vorhofdruckes, der den Gewinn an Zuflußgefälle fast gänzlich vernichtet, so daß das Stromvolumen in der Aorta nur geringfügig von 535 auf 690 cm³ zunimmt. Nach dieser Kennzeichnung des Grades der Schädigung, wurden bei II 3 mg Äthyl-Sympatol gegeben: Innerhalb von 10 Sekunden sinken die Vorhofdrucke und mit

ihnen der Druck in der Arteria pulmonalis ab, die Herzleistung bessert sich schlagartig. Die Förderung nimmt von 535 auf 1650 cm³ pro Minute, also um 200% zu. Gleichzeitig nimmt aber auch die Schlagzahl von 148 auf 192, d. h. um 30%, zu; das Schlagvolumen wird daher um 140% (von 3,6 auf 8,6 cm³) gesteigert. Eine danach ausgeführte Belastungsprobe zeigt, daß das Herz durch Äthyl-Sympatol wieder vollkommen suffizient geworden ist (vgl. Schluß von Abb. 7); es schöpft das durch Heben des venösen Reservoirs vergrößerte Blutangebot ohne nennenswerte Vorhofdrucksteigerung vollkommen aus und fördert jetzt mit 11,5 cm³ Schlagvolumen 2200 cm³ in der Minute.

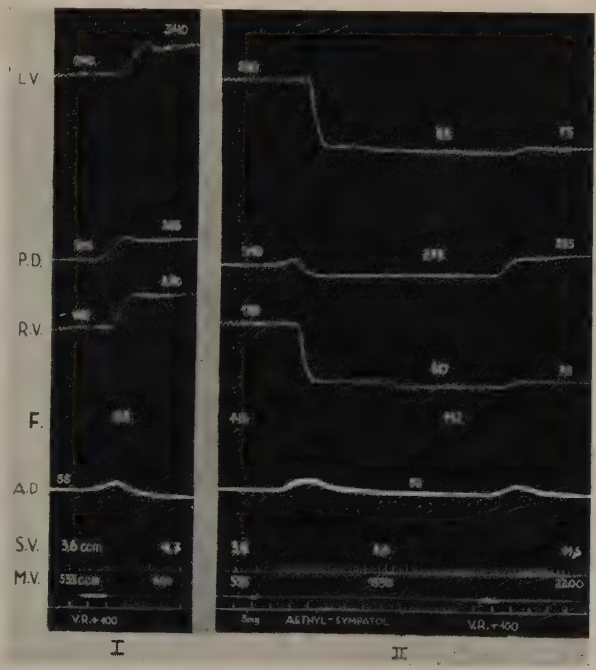


Abb. 7. Wirkung von 3 mg Äthyl-Sympatol auf das pernoktongeschädigte Herz. Herz-Lungenpräparat, Hund 8,5 kg. I. Belastungsprobe nach Schädigung des Herzens durch 0,5 cm³ Pernokton. II. die gleiche Belastungsprobe nach Beseitigung der Pernoctonschädigung durch 3 mg Äthyl-Sympatol. Registrierungen von oben nach unten: L. V. Linker Vorhofdruck, P. D. Pulmonaldruck, R. V. Rechter Vorhofdruck mm H_2O; F. Schlagzahl/min.; A. D. Aortendruck mm Hg; S. V. Schlagvolumen, M. V. Aortenstromvolumen cm³/min.; Zeitmarken 10 Sekunden.

Diese starke und rasch einsetzende Besserung der Herzleistung nach Äthyl-Sympatol sahen wir in allen Versuchen; selbst wenn durch übermäßige Pernoktongaben das Aortenstromvolumen auf 0 abgesunken war, konnte mit Äthyl-Sympatol eine vollkommene Wiederherstellung der vor der Schädigung bestandenen Leistungsfähigkeit erzielt werden. Dabei nahm die Frequenz des denervierten Herzens stets zu, so daß die Besserung der Förderleistung nur zum Teil auf Steigerung des Schlagvolumens zurückzuführen ist. Die Dauer der Leistungssteigerung nach Äthyl-Sympatol ist beträchtlich (vgl. unten S. 220).

In einer Reihe von Versuchen haben wir auch die Wirkung des Äthyl-Sympatols auf die Koronardurchblutung geprüft und dabei an nicht-geschädigten Herzen langanhaltende Erweiterungen der Koronargefäße erzielt. Die Wirkung tritt sehr viel langsamer ein als die Erweiterung nach Adrenalin; das Maximum, das stets mindestens einer Verdoppelung des Ausgangswertes entspricht, wird erst nach 10 min erreicht, während nach Adrenalin der Koronarsinusausfluß sofort steil ansteigt und schon in der zweiten Minute langsam wieder zu fallen beginnt.

Ob bei dieser Zunahme der Koronardurchblutung, die nach Äthyl-Sympatol einen ganz ähnlichen Verlauf nimmt wie nach Sympatol (vgl. auch Kuschinsky[3] S. 298), ausschließlich eine unmittelbar ausgelöste Erweiterung der Koronarien vorliegt, ist durch die vorliegenden Versuche nicht entschieden; die langsame Zunahme der Koronardurchblutung, die im Gegensatz zu der raschen Wirkung auf Förderleistung und Frequenz steht, legt den Gedanken nahe, daß die fortschreitende Weiterstellung der Koronarien am Herz-Lungenpräparat zum Teil mittelbar durch Stoffwechselprodukte bedingt sein könnte, die bei der vermehrten Herzarbeit abgegeben werden (Histamin: v. Anrep u. Mitarbeiter[20]).

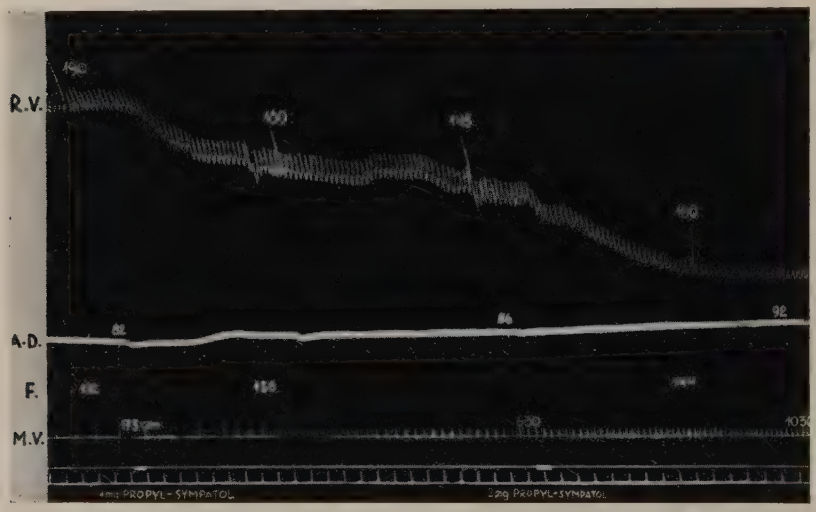


Abb. 8. Wirkung von Propyl-Sympatol auf das pernoktongeschädigte Herz. Herz-Lungenpräparat, Hund 11 kg. Registrierungen von oben nach unten: R. V. Rechter Vorhofdruck mm H_2O; A. D. Aortendruck mm Hg; F. Schlagzahl/min; M. V. Aortenstromvolumen cm^3/min.; Zeitmarke 10 sec.

In gleicher Dosierung wie das Äthyl-Sympatol steigert auch *Propyl-Sympatol* die Leistung des pernoctongeschädigten Herzens. Aber der Wirkungsablauf, den als Beispiel Abb. 8 wiedergibt, zeigt gegenüber dem Äthyl-Sympatol weitgehende Unterschiede.

Im Versuchsbeispiel der Abb. 8 beseitigt 1 mg Propyl-Sympatol an einem durch 0,5 cm^3 Pernokton schwer geschädigten Herzen die Schädigung nur zum Teil; der Abfall des rechten Vorhofdruckes und die Zunahme des Stromvolumens in der Aorta treten langsam im Verlauf von etwa 2—3 min ein. Eine zweite Gabe von

2 mg Propyl-Sympatol, die wiederum erst in der gleichen Zeitspanne von 2—3 min voll wirksam wird, hebt die Pernoktonschädigung vollkommen auf. Die Frequenz nimmt unter Propyl-Sympatol sehr viel weniger zu als nach Äthyl-Sympatol, im vorliegenden Versuchsbeispiel nur von 132 auf 144, so daß die Steigerung des Minutenvolumens von 175 auf 1030 cm³ fast zur Gänze auf einer Besserung des Schlagvolumens beruht.

Die Wirkung von *Butyl-Sympatol* ist durch einen noch mehr verlangsamten Ablauf gekennzeichnet. Abb. 9 umfaßt einen Versuchsausschnitt von 9 min Dauer.

Die maximale Besserung der Herzleistung wird unter 2 mg Butyl-Sympatol erst nach 6—7 min erreicht; der Vorhofdruck sinkt langsam und gleichmäßig,

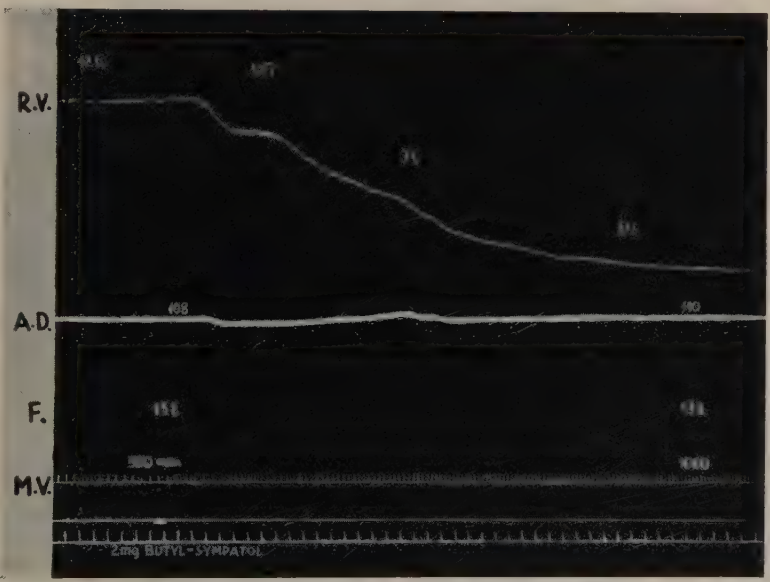


Abb. 9. Wirkung von Butyl-Sympatol auf das pernoctongeschädigte Herz. Herz-Lungenpräparat, Hund 11 kg. Registrierungen von oben nach unten: R. V. Rechter Vorhof mm H_2O; A. D. Aortendruck mm Hg; F. Schlagzahl/min; M. V. Aortenstromvolumen ccm/min; Zeitmarken 10 sec.

das Minutenvolumen nimmt dementsprechend stetig zu. Die Frequenz bleibt dabei unverändert, die Leistungsbesserung ist ausschließlich auf die Zunahme des Schlagvolumens zurückzuführen.

Größere wiederholte Gaben von Butyl-Sympatol ergeben häufig entgegengesetzte Wirkungen; wir sahen danach Verschlechterungen der Herzleistung, welche durch keines der anderen Sympatolderivate und auch nicht durch Adrenalin zu beheben waren. Gelegentlich wirkten auch wiederholte große Dosen (20—50 mg) von Propyl-Sympatol schädigend, während selbst die größten Gaben von Äthyl-Sympatol sich nie im Sinne einer Abnahme der Herzkraft geltend machten.

b) *Wirkung der Adrianolderivate. Äthyl-Adrianol* erweist sich bereits in sehr kleinen Dosen als kräftiges Herzmittel.

In dem in Abb. 10 wiedergegebenen Versuch beseitigen 0.25 mg Äthyl-Adrianol die Pernoktonschädigung vollkommen. Die Wirkung tritt wie bei Äthyl-Sympatol (vgl. Abb. 7) rasch ein, das Minutenvolumen steigt von 400 auf 1200 cm³. Die Frequenz nimmt von 112 auf 132 zu; ähnlich wie bei Äthyl-Sympatol ist daher die Leistungsbesserung nach Äthyl-Adrianol nicht ausschließlich durch eine Vergrößerung des Schlagvolumens bedingt. Die Besserung der Herzleistung ist anhaltend; auch 2 Std nach der Äthyl-Adrianolinjektion fördert, wie Teil II der Abb. 10 beweist, das früher schwer geschädigte Herz noch 1000 cm³/min.

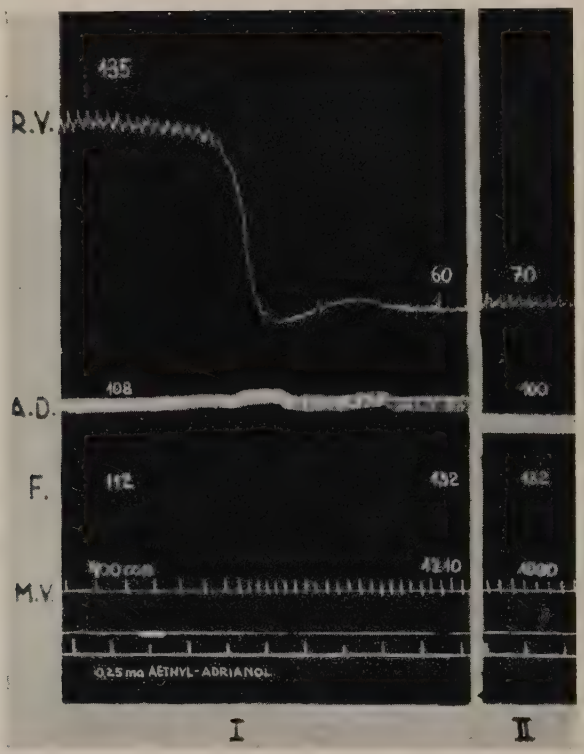


Abb. 10. I. Wirkung von 0,25 mg Äthyl-Adrianol auf das pernoctongeschädigte Herz. II. 120 min nach der Äthyl Adrianolinjektion. Herz Lungenpräparat, Hund 11,5 kg. R. V. Rechter Vorhofdruck mm H_2O; A. D. Aortendruck mm Hg; F. Schlagzahl/min, M. V. Aortenstromvolumen ccm/min; Zeitmarken 10 sec.

Propyl- und *Butyl-Adrianol* zeigen dem Äthyl-Adrianol gegenüber ähnliche Wirkungsunterschiede, wie wir sie bereits in der Reihe der Sympatolderivate festgestellt haben. Der Wirkungsablauf des Propyl-Adrianols ist, wenn auch nur geringfügig, verzögert; das Butyl-Adrianol bedarf bereits, wie Abb. 11 zeigt, einer Zeitspanne von 3 min um seine Wirkung voll zu entfalten. Die Frequenzsteigerung nimmt vom Äthyl-Adrianol über Propyl- zum Butyl-Adrianol ab, ist aber auch bei Butyl-Adrianol noch deutlich vorhanden (vgl. Abb. 11) und für die

Steigerung der Herzleistung mitverantwortlich zu machen. In ähnlicher Weise wie Butyl-Sympatol schädigen auch große Dosen von Butyl-Adrianol das Herz. Äthyl-Adrianol wird dagegen in jeder Dosierung bei beliebig häufiger Injektion vom Herzen ohne Schädigung vertragen.

c) *Vergleich der Sympatol- und Adrianolderivate.* Wenn auch alle untersuchten Derivate des Sympatols wie des Adrianols das pernoctongeschädigte Herz ausgezeichnet zu bessern vermögen, so sind diese Leistungssteigerungen in ihrem Ausmaß und Ablauf doch stark voneinander verschieden. Die Wirkung der Äthylverbindungen beider

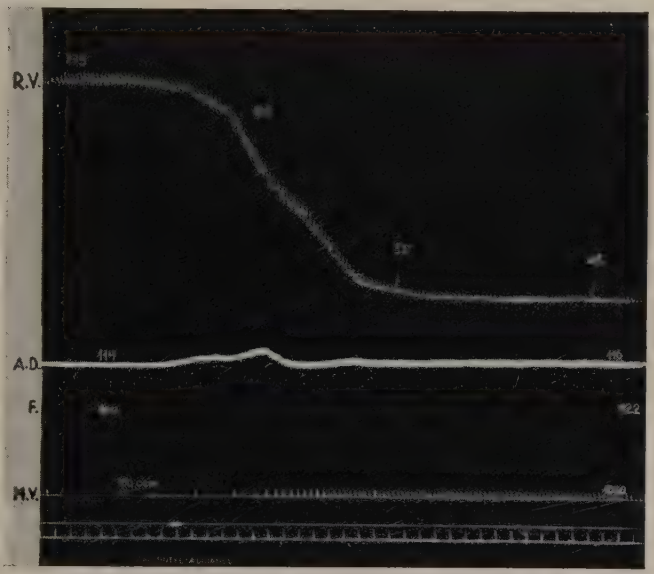


Abb. 11. Wirkung von Butyl-Adrianol auf das pernoctongeschädigte Herz. Herz-Lungenpräparat Hund 12 kg. Registrierungen von oben nach unten: R. V. Rechter Vorhof mm H_2O; A. D. Aortendruck mm Hg; F. Schlagzahl/min; M. V. Aortenstromvolumen cm^3/min.; Zeitmarken 10 sec.

Reihen tritt rasch ein und erreicht bereits innerhalb der ersten Minute das Wirkungsoptimum, während die Propyl- und ganz besonders die Butylverbindungen erst im Verlauf von 3 bis 7 min voll wirksam werden. Die Äthylverbindungen sind in kleineren Dosen als die weiteren Glieder beider Reihen wirksam. Äthyl-Adrianol, das schon in Bruchteilen eines mg Pernoctonschädigungen vollkommen aufzuheben vermag, steht in dieser Hinsicht an der Spitze. Die starke Frequenzbeschleunigung, die den Anfangsgliedern der homologen Reihe eigen ist, nimmt über Propyl- zu den Butylderivaten stark ab; bei Butyl-Sympatol war eine Vergrößerung der Schlagzahl an denervierten Herzen nicht mehr nachweisbar. Aus dem Verhalten der Frequenz ist daher zu folgern, daß die Besserung der Herzleistung nach Butyl-Sympatol und Butyl-Adrianol

fast ausschließlich durch Steigerung des Schlagvolumens erfolgt, daß diese beiden Körper also den Anforderungen an ein Herzmittel am vollkommensten entsprechen würden. Dem steht aber als wesentlicher Nachteil entgegen, daß größere Gaben von Propyl- und vornehmlich von Butylderivaten bei wiederholter Verabfolgung ähnlich dem Ephedrin zu Schädigungen des Herzens führen, welche nach Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol niemals auftreten.

In den folgenden Versuchen wurde die Wirkung von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol mit Sympatol wie mit Adrenalin an *einem* Herzen vergleichend geprüft. Derartige Vergleiche, die wir in großer Zahl durch-

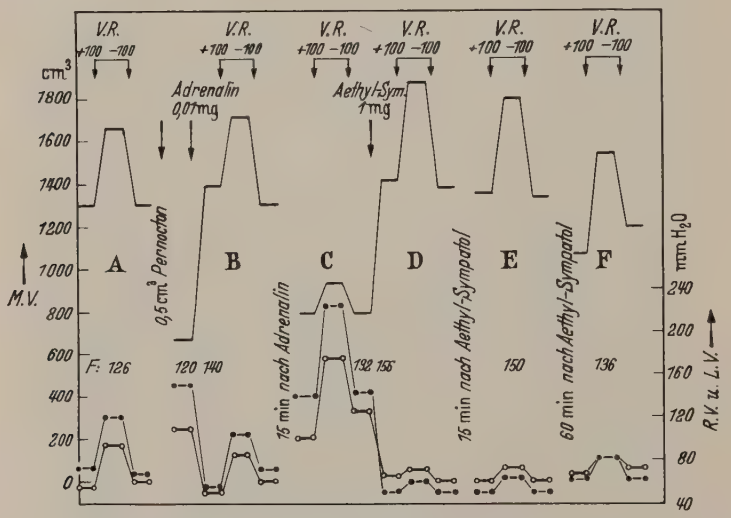


Abb. 12. Vergleich der Wirkung und Wirkungsdauer von 0,01 mg Adrenalin und von 1 mg Äthyl-Sympatol am pernoctongeschädigten Herzen. Herz-Lungenpräparat. Hund 12 kg. Aortendruck unverändert 86 mm Hg. M. V. ——— Aortenstromvolumen cm³/min.; ●———● Rechter Vorhofdruck, ○———○ Linker Vorhofdruck mm H_2O; F. Schlagzahl/min.; V. R. Belastungsproben durch Heben und Senken des venösen Reservoirs um 100 mm.

führten, stoßen insofern auf Schwierigkeiten, als es besonders bei den langwirkenden Sympatol- und Adrianolabkömmlingen nicht immer einwandfrei möglich ist, nach einmaliger Prüfung des einen Körpers wieder die gleichen Ausgangsbedingungen für den Vergleichspartner zu finden. Immerhin gelang es, wie aus den folgenden Abbildungen hervorgeht, Wirkungs- und Wirksamkeitsunterschiede der verschiedenen Körper am gleichen Herzen eindeutig festzulegen.

Abb. 12 zeigt die Wirkung von Äthyl-Sympatol und Adrenalin in annähernd gleich herzbessernden Dosen an einem pernoctongeschädigten Herzen.

Die Belastungsprobe bei A veranschaulicht den leistungsfähigen Zustand des Herzens vor der Schädigung. Nach 0,5 cm³ Pernokton steigen beide Vorhofdrucke

stark an, und die Förderleistung geht auf die Hälfte zurück. Durch 0,01 mg Adrenalin wird diese Schädigung restlos beseitigt: Vorhofdrucke und Minutenvolumen kehren wieder zur Norm zurück, und die Belastung bei B erweist wieder die gleiche Leistungsfähigkeit des Herzens wie vor der Pernoktonschädigung bei A. Die Adrenalinwirkung ist aber flüchtig: 15 min später ist sie bereits abgeklungen, und die Pernoktonschädigung tritt wieder voll in Erscheinung. Die Belastungsprobe C beweist durch den steilen Anstieg der Vorhofdrucke und die geringfügige Zunahme des Minutenvolumens, daß das Herz wieder hart an der Suffizienzgrenze arbeitet. 1 mg Äthyl-Sympatol, also eine gegenüber Adrenalin verhundertfachte Dosis, bewirkt eine Steigerung der Herzleistung von ähnlichem Ausmaße wie Adrenalin. Auch die Frequenzerhöhung ist in beiden Fällen annähernd gleich. Die nach der Injektion von Äthyl-Sympatol vorgenommene Belastungsprobe ergibt sogar eine etwas größere Leistungsfähigkeit des Herzens als bei A und B; ohne nennenswerten Anstieg der Vorhofdrucke wird das durch Heben des venösen Reservoirs erhöhte Zuflußgefälle voll ausgenützt.

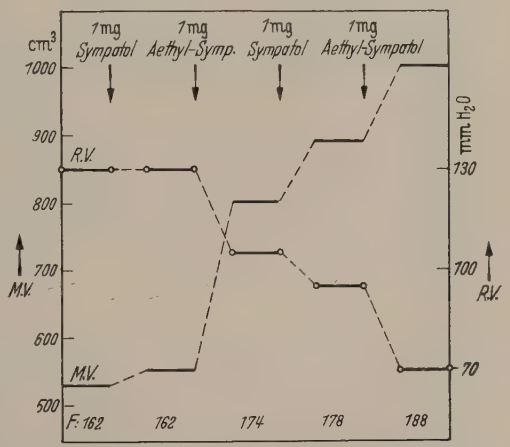


Abb. 13. Wiederholter Vergleich der Wirkungen von Äthyl-Sympatol und Sympatol auf Vorhofdruck und Minutenvolumen am pernoctongeschädigten Herzen. Herz-Lungenpräparat, Hund 9,0 kg. Aortendruck unverändert 102 mm Hg. R. V. ●——● Rechter Vorhof mm H_2O; M. V. Aortenstromvolumen ccm/min; F. Schlagzahl/min.

Der große Unterschied zwischen Äthyl-Sympatol und Adrenalin liegt in der *Dauer der Wirkung;* denn das Äthyl-Sympatol, ist auch nach 15 min und sogar nach 60 min, wie die Kurvenabschnitte bei E und F belegen, noch fast voll wirksam. Selbst 1 Std nach der Injektion fördert das Herz ein Aortenstromvolumen von 1200 cm³, ist also noch immer ähnlich leistungsfähig wie vor der Pernoctonchädigung. Auch die Frequenzbeschleunigung hält über Stunden an.

Einen Vergleich von Äthyl-Sympatol mit Sympatol gibt Abb. 13 wieder.

Diesem pernoktongeschädigten Herzen wurden abwechselnd gleiche Dosen von Sympatol und Äthyl-Sympatol zugeführt. Wir sehen, daß die erste Sympatolinjektion (1 mg) nur angedeutet wirksam ist; eine merkliche Besserung tritt erst nach 1 mg Äthyl-Sympatol ein. Daß diese Überlegenheit des Äthyl-Sympatols nicht auf einem Zusammenwirken mit dem vorher gegebenen Sympatol beruht, sondern auf eine stärkere Wirksamkeit des Äthyl-Sympatols zurückzuführen ist, beweisen die beiden folgenden Besserungsstufen, bei denen ebenfalls das Äthyl-Sympatol bei gleicher Dosierung dem Sympatol überlegen war.

In ähnlicher Weise wurden mehrfach Vergleiche zwischen Äthyl-*Adrianol* und Sympatol durchgeführt. In dem Versuch in Abb. 14 wurde

das hochwirksame Äthyl-Adrianol mit der zehnfachen Dosis Sympatol verglichen und bei diesem Dosierungsunterschied annähernd gleiche Wirkungen erzielt.

Der starke Effekt der ersten Injektion von Äthyl-Adrianol ist offenbar darauf zurückzuführen, daß das Herz unmittelbar nach der Schädigung mit 0,5 cm³ Pernokton einer Besserung besonders zugänglich war, denn das gleiche zeigt sich auch nach neuerlicher Pernoktonschädigung im zweiten Teil des Versuchsbeispieles mit Sympatol. Die folgenden Stufen zeigen deutlich Äthyl-Adrianol und Sympatol im Verhältnis 1 : 10 annähernd gleichstarke Leistungssteigerungen. Das Ausmaß der Besserungen nimmt mehr und mehr ab, bis schließlich die letzte Injektion an dem

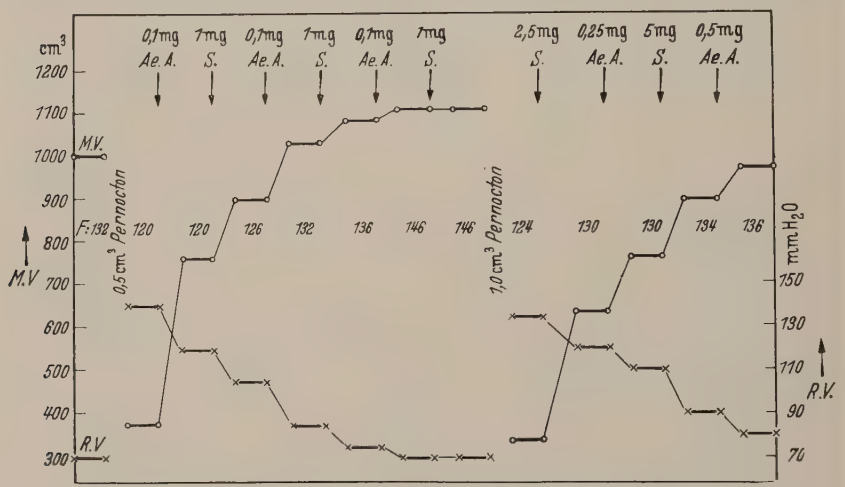


Abb. 14. Wiederholter Vergleich der Wirkungen von Äthyl-Adrianol (Ae. A.) und Sympatol (S.) am pernoctongeschädigten Herzen. Herz-Lungenpräparat, Hund 11,5 kg. Aortendruck unverändert 100 mm Hg.; M. V. ○———○ Aortenstromvolumen cm³/min.; R. V. ×——× Rechter Vorhof mm H O; F. Schlagzahl/min.

wieder vollständig leistungsfähigen Herzen unwirksam bleibt. Im zweiten Teil des Versuches wurden entsprechend der nunmehr stärkeren Herzschädigung höhere Dosen Äthyl-Adrianol und Sympatol im gleichen Wirksamkeitsverhältnis 1 : 10 gegeben.

Nach diesen Versuchen ist das an den Gefäßen so wenig wirksame Äthyl-Sympatol ein sehr kräftiges Herzmittel, das langanhaltende Leistungssteigerungen bewirkt. Seine Wirksamkeit entspricht etwa der des Sympatols, dem es aber hinsichtlich der Wirkungsdauer wesentlich überlegen ist. Die gleiche lange Wirkungsdauer zeichnet auch das Äthyl-Adrianol aus, das im Durchschnitt aller Versuche mindestens 10mal wirksamer war als Sympatol. Beide Äthylkörper zeigen bei wiederholter Injektion stets gleichartige Wirkungen; Schädigungen konnten auch bei sehr hohen Dosen, welche die herzwirksamen um das hundertfache überstiegen, nie beobachtet werden. Hierin unterscheiden sich die Äthylkörper von den Propyl- und besonders von den Butyl-

körpern, die wohl auch stark herzbessernd wirken, aber bei mehrfacher Verabfolgung und Überdosierung zu Schädigungen führen. In dieser Hinsicht ähneln die Butylkörper dem Ephedrin, das jedoch wesentlich stärker die Frequenz beschleunigt.

5. Wirkung am ganzen Tier bei Kreislaufschädigung.

a) *Versuche bei Herzschädigung.* Da am ganzen Tier naturgemäß Herz- und Gefäßwirkung nur schwer voneinander zu trennen sind, so interessierte unter diesen Bedingungen vor allem der Einfluß des *Äthyl-Sympatols*, weil es mit seiner starken Herzwirkung eine bestenfalls sehr geringfügige Gefäßwirkung verbindet. Die Voraussetzung für einen ausgiebigen therapeutischen Effekt war eine möglichst starke Herzschädigung. Hierzu erwiesen sich intravenöse Injektionen von Barbitursäurederivaten als ungeeignet, da zur Auslösung einer merklichen Herzinsuffizienz am ganzen Tier große Dosen erforderlich wären, die gleichzeitig oder noch vor Beeinträchtigung der Herzleistung das Zentralnervensystem und den peripheren Kreislauf weitgehend lähmen. Um diese unerwünschten Wirkungen auf den Gesamtorganismus zu vermeiden und mit kleinsten Barbitursäuregaben eine möglichst auf das Herz beschränkte Schädigung zu erzielen, bedienten wir uns des folgenden Verfahrens.

Methodik: Nach Eröffnen des Thorax bei künstlicher Atmung in Morphin-Chloralosenarkose wurden zunächst Fadenschlingen um die Aorta ascendens und die Vena inf. und sub. gelegt, dann die Kanülen zur Druckmessung in den rechten Vorhof (durch das Herzohr) und die Arteria pulmonalis (Seitenast des linken Hauptstammes) eingebunden und das Herzonkometer angelegt, das lediglich die Kammern bis zur Vorhofgrenze umschloß. Die Drucke im Vorhof und in der Arteria pulmonalis wurden mit Wassermanometern und Volumschreibern, der Blutdruck in der Arteria femoralis mit einem Quecksilbermanometer und die Volumkurve der Herzkammern mit einem Pistonrekorder verzeichnet.

Nachdem ohne weitere Eingriffe ein Kurvenabschnitt zu Kontrollzwecken registriert war, brachten wir das auch hier verwendete Pernokton in folgender Weise an das Herz heran: Beide Hohlvenen wurden mittels der Fadenschlingen abgeklemmt und nach der Unterbrechung des venösen Zuflusses einige Herzschläge später auch die Aorta ascendens mit einem Péan gesperrt. Nun injizierten wir mit einer sehr feinen Nadel in den *herznahen* Aortenabschnitt Pernokton, das jetzt aus der unter mäßigem Druck stehenden Aorta nur durch die Koronararterien, also unmittelbar zum Herzmuskel abfließen konnte. Der Eintritt der Pernoktonwirkung war deutlich an der schlagartigen Erweiterung des Herzens im Onkometer zu sehen. Einige Sekunden später wurden Zu- und Abfluß wieder freigegeben. Auf diese Weise ließen sich schon mit sehr kleinen, sonst völlig herzunwirksamen Dosen von 0,2—0,3 cm^3 Pernokton schwerste Herzschädigungen erzielen, die genügend lange anhielten, um eine Wirkung des Äthyl-Sympatols einwandfrei festzustellen.

Für die Ergebnisse dieser (insgesamt 7) Versuche dient Abb. 15 als Beispiel.

Vor dem in der Abb. 15 bei I wiedergegebenen Kurvenabschnitt war das Herz bereits einmal in der oben beschriebenen Weise durch Pernokton vergiftet und mit

Äthyl-Sympatol behandelt worden. Diese Eingriffe und die lange Versuchsdauer bei offenem Thorax haben zu einer gewissen Kreislaufschädigung geführt, die in der Kurve bei I an der Höhe des rechten Vorhofdruckes und dem niederen Blutdruck erkennbar ist. Nun wurde zwischen Abschnitt I und II, ohne die Lage des Onkometers zu ändern, das Herz von der Aorta aus mit 0,25 cm³ Pernokton neuerlich geschädigt. Der Beginn des zweiten Kurventeiles in Abb. 15 zeigt sehr deutlich die vernichtende Wirkung des Pernoktons: Der Druck im rechten Vorhof ist von 50 auf 150 mm H_2O gestiegen und das Schlagvolumen des stark erweiterten Herzens von 4,5 auf 1,25 cm³ gesunken. Außerdem sehen wir als Folge der Pernoktoninjektion eine auch am Herz-Lungenpräparat stets beobachtete starke Abnahme der Frequenz (von 170 auf 138), die die Insuffizienz weiter verschärfen muß. Der schon

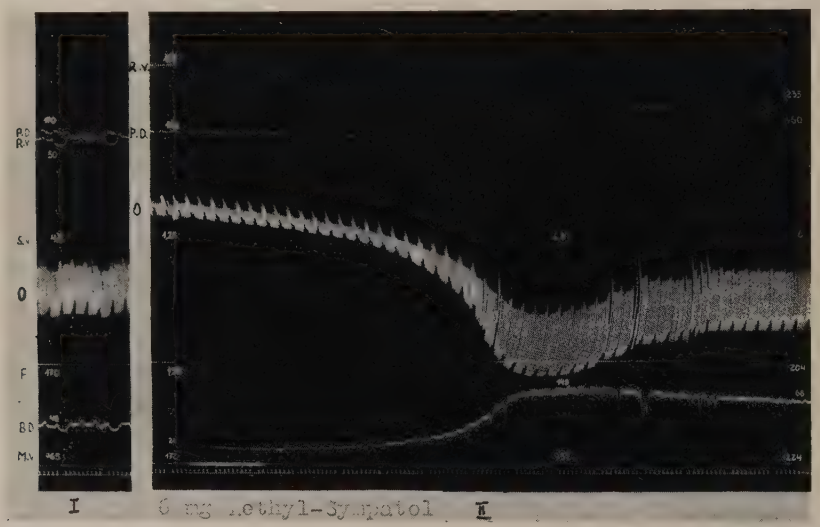


Abb. 15. Wirkung von Äthyl-Sympatol bei Herzschädigung. Hund 8 kg Morphin (8 mg/kg) — Chloralose (8 cg/kg) — Narkose. Vagi durchschnitten. Künstliche Atmung. I. Vor der Schädigung. II. Herz durch 0,25 cm³ Pernocton geschädigt; Beseitigung der Herzschädigung durch 6 mg Äthyl-Sympatol. Registrierungen von oben nach unten: P. D. Pulmonaldruck, R. V. Rechter Vorhofdruck mm H_2O; O Herzonkometer; F Schlagzahl/min.; S. V. Schlagvolumen cm³; B. D. Blutdruck mm Hg; M. V. Minutenvolumen. Zeitmarken 1 sec.

vor der Schädigung niedere Blutdruck ist offenbar infolge des starken Rückganges des Minutenvolumens noch weiter gesunken. Dieser Zustand schwerster Herzinsuffizienz würde, sich selbst überlassen, wie wir in anderen Versuchen sahen, rasch zum Tode führen. Eine intravenöse Injektion von 6 mg Äthyl-Sympatol hebt jedoch die bedrohlichen Erscheinungen vollständig auf. Sobald bei der offenbar stark verlangsamten Strömung das Äthyl-Sympatol den Herzmuskel erreicht, nimmt das Schlagvolumen mehr und mehr zu, die Herzerweiterung geht zurück, der Vorhofdruck fällt ab. Zwei Minuten nach der Injektion fördert das Herz 6 cm³ mit jedem Schlag, das Minutenvolumen hat noch stärker zugenommen (von 172 auf 1224 cm³), da die Frequenz durch Äthyl-Sympatol an diesem vagotomierten Hund auf 204 gegenüber 170 vor der Schädigung gesteigert wurde. Mit dem Fortschreiten der Herzbesserung verbunden ist ein Anstieg des Blutdruckes und des Druckes in der Arteria pulmonalis. Da das Äthyl-Sympatol nicht gefäßverengernd wirkt und daher den Blutdruck an sich nicht steigert, so muß der hier verzeichnete

plateauähnliche Blutdruckanstieg mittelbar durch die Zunahme des Minutenvolumens infolge Besserung der Herzleistung bedingt sein.

b) *Versuche bei Gefäßschädigung.* Für Versuche, bei denen die Kreislaufschädigung nicht durch Herzschwäche, sondern durch *Gefäßinsuffizienz* bedingt war, benützten wir die gleiche Versuchsanordnung (Narkose, Messung von Blutdruck, Vorhofdruck und Herzvolumen) wie vorher (vgl. S. 225). Zur Gefäßlähmung wurden Histamin und auch kleine Pernoctondosen injiziert, bis ein konstanter Schädigungsgrad erreicht war.

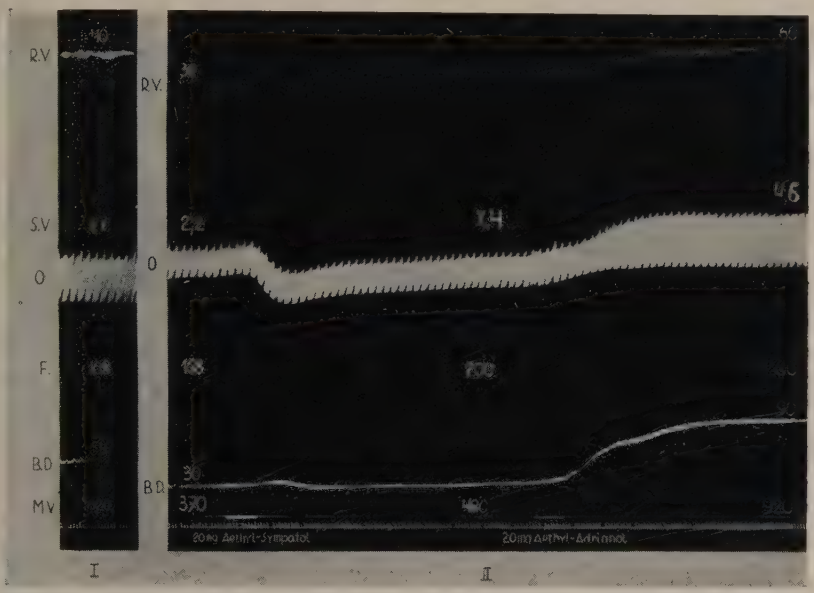


Abb. 16. Wirkung von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol bei Gefäßlähmung durch Histamin-Pernocton. Hund 8 kg. Morphin (8 mg/kg) — Chloralose (8 cg/kg) — Narkose. Vagi durchschnitten. Künstliche Atmung. I. Vor der Schädigung. II. Gefäßkollaps nach 1 mg Histamin und 0,3 cm³ Pernocton i. v.; Wirkung von 20 mg Äthyl-Sympatol und 20 mg Äthyl-Adrianol. Registrierungen von oben nach unten: R. V. Rechter Vorhofdruck mm H_2O; S. V. Schlagvolumen cm³; O Herzonkometer; F. Schlagzahl/min.; B. D. Blutdruck mm Hg; M. V. Minutenvolumen cm³. Zeitmarken 1 sec.

Abb. 16 veranschaulicht die Wirkung gleicher Dosen von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol bei einem Gefäßkollaps, der duch Injektion von 1 mg Histamin und 0,3 cm³ Pernocton herbeigeführt worden war. Die Folgen dieser Gefäßlähmung sind aus dem Vergleich von Abschnitt I und dem Beginn von Abschnitt II deutlich zu ersehen.

Infolge des verminderten venösen Rückflusses ist der Vorhofdruck (von 40 auf 30 mm H_2O) abgesunken, das Schlagvolumen hat von 3,7 auf 2,2 cm³, das Minutenvolumen von 620 auf 370 cm³ abgenommen, und der vorher schon niedere Blutdruck ist auf 30 mm Hg gefallen. Nachdem dieser Zustand mehrere Minuten unverändert geblieben war, wurden 20 mg *Äthyl-Sympatol* intravenös gegeben.

Die Wirkung dieser Injektion war, verglichen mit dem bei Herzschädigung gezeigten Effekt (vgl. Abb. 15), sehr gering. Wir sehen lediglich eine systolischere Einstellung der Herzvolumkurve ohne nennenswerte Zunahme des Schlagvolumens (von 2,2 auf 2,4 ccm). Die Steigerung des Minutenvolumens von 370 auf 480 ccm ist im wesentlichen auf die Zunahme der Schlagfrequenz von 168 auf 200 in der Minute zurückzuführen. Die im Vergleich zum Versuch Abb. 15 unbedeutende Minutenvolumenzunahme reicht offenbar nicht aus, um eine Erhöhung des Blutdruckes zu bewirken.

Im scharfen Gegensatz zu dem Versagen des Äthyl-Sympatols beim Gefäßkollaps steht die nun folgende Wirkung von *Äthyl-Adrianol*. Dieser Körper vermag in einer Dosis von 20 mg den schweren Gefäßkollaps vollständig zu beheben. Der venöse Rückstrom wird, beträchtlich gefördert (vgl. Abb. 16). Der Druck im rechten Vorhof steigt auf 60 mm H_2O, die Füllung des Herzens wird nahezu verdoppelt (Schlagvolumen von 2,4 auf 4,6 cm^3), das Minutenvolumen nimmt bei unveränderter Frequenz von 480 auf 920 cm^3 zu. Gleichzeitig steigt auch der Blutdruck am 90 mm Hg an und hält sich ebenso wie das Minutenvolumen lange Zeit auf der erreichten Höhe.

Die in Abb. 15 und 16 gezeigten Versuchsbeispiele haben am ganzen Tier Wirkungsbilder ergeben, die in voller Übereinstimmung zu unseren Versuchen am isolierten Herzen einerseits, am durchströmten Gefäßpräparat andererseits stehen. Das nur herz- und nicht gefäßwirksame Äthyl-Sympatol vermag nur eine *Herz-*, aber nicht eine *Gefäßschädigung* zu beseitigen; Äthyl-Adrianol dagegen kann dank seiner vasokonstriktorischen Wirkung das im Gefäßkollaps versackte Blut wieder dem Herzen zuführen und dadurch den Kreislauf in Gang bringen.

6. Perorale Wirksamkeit von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol an nicht narkotisierten Hunden.

Da die Analyse der Kreislaufwirkungen der Sympatol- und Adrianolabkömmlinge für die Äthylkörper günstige Herz- und Gefäßwirkungen ergab, erschien es von Interesse, ihre perorale Wirksamkeit am nicht narkotisierten Tier zu prüfen. Als Kriterium der Wirkung diente die Beobachtung der Frequenz und die Messung des Blutdruckes, der durch Einstich einer feinen Injektionsnadel in die Arteria femoralis mit einem Quecksilbermanometer in halbstündigen Abständen registiert wurde. Dieses von Heymans geübte Verfahren hat sich auch hier bestens bewährt (methodische Einzelheiten siehe bei Konzett und Unna[21]).

Wir gaben Hunden, die an die Schlundsonde und an langes Stehen im Pawlow-Gestell gewöhnt waren, Äthyl-Sympatol bzw. Äthyl-Adrianol in wenigen cm^3 Wasser gelöst mit dem Magenschlauch und beobachteten zunächst die Pulsfrequenz. Nach 20 mg *Äthyl-Sympatol* stieg die Schlagzahl regelmäßig bedeutend an (siehe Abb. 17, starkgestrichelte Kurve bei A). Ausgehend von einer Normalfrequenz zwischen 60 und 80 pro min erreichte sie stets Werte von 140 bis 160. Beim Palpieren des Thorax konnten wir eine bedeutend verstärkte Herz-

aktion feststellen; man fühlte und hörte, wie das Herz jetzt sehr kräftig gegen die Brustwand hämmerte. Der gleiche Versuch am gleichen Hund mit 20 mg *Äthyl-Adrianol* (siehe Abb. 17, stark gestrichelte Kurve bei B) ergab kein Ansteigen der Frequenz, in anderen Fällen sogar eine leichte

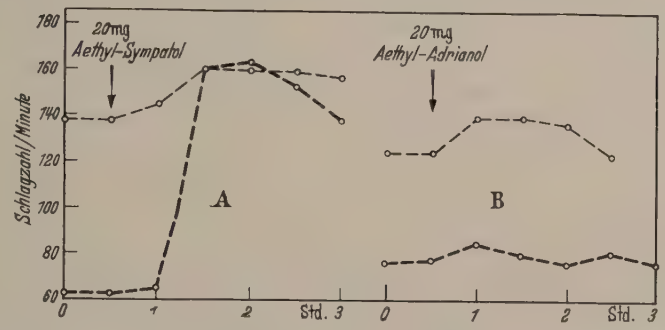


Abb. 17. Wirkung von Äthyl-Sympatol (A) und Äthyl-Adrianol (B) auf die Herzfrequenz eines Hundes von 21 kg bei peroraler Verabfolgung. Starkgestrichelte Kurven: ohne Atropin. Feingestrichelte Kurven: nach Atropinisierung (3 mg Atropin subkutan).

Abnahme. Das nach Äthyl-Sympatol beobachtete starke Herzklopfen trat nach Äthyl-Adrianol nicht auf.

Um festzustellen, wie weit die hier beschriebenen Frequenzänderungen von vagalen Einflüssen abhängig sind, wiederholten wir die Versuche nach subkutaner Injektion von Atropin und fanden, daß dann sowohl

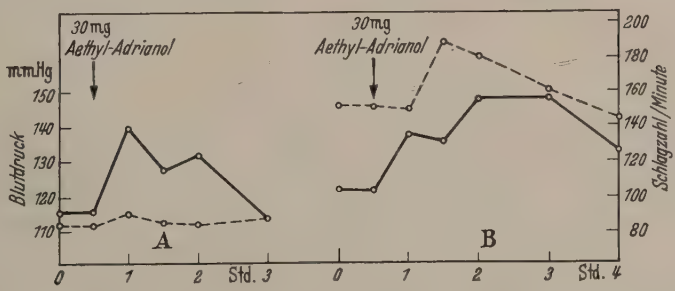


Abb. 18. Wirkung von 30 mg Äthyl-Adrianol bei peroraler Verabfolgung vor (A) und nach Atropin (3 mg subkutan) (B) auf Blutdruck und Schlagfrequenz eines nicht narkotisierten Hundes von 21 kg. ——— Blutdruck, gemessen durch Einstich in die Art. fem.; – – – – Schlagfrequenz.

Äthyl-Sympatol wie Äthyl-Adrianol die Schlagfrequenz erhöhen (siehe Abb. 17, feingestrichelte Kurven bei A bzw. B). Die beiden Äthylkörper wirken nach der Vagusausschaltung durch Atropin, ähnlich wie am denervierten Herzen, annähernd gleich frequenzbeschleunigend. Es war daher naheliegend, den großen Unterschied in der Frequenzwirkung am nicht atropinisierten Tier auf die verschiedene Blutdruckwirkung von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol zurückzuführen. *Äthyl-Sym-*

patol ergab nämlich auch am nichtnarkotisierten Tier keinerlei Blutdrucksteigerung, die reflektorisch eine Gegenregulation gegen seine frequenzbeschleunigende Wirkung hätte auslösen können. Bei *Äthyl-Adrianol* dagegen konnten wir stets, in Übereinstimmung mit allen bisher beschriebenen Versuchen, auch nach peroraler Verabfolgung eine langanhaltende Blutdruckzunahme nachweisen. Als Beispiel hierfür sei Abb. 18 angeführt: Die Frequenz bleibt ohne Atropin unverändert, steigt dagegen am atropinisierten Tier etwas an. Der Blutdruck stieg in allen Versuchen innerhalb der ersten halben Stunde nach der peroralen Verabfolgung an, erreichte in den meisten Fällen im Verlauf einer Stunde seinen Höchstwert und war nach $2^1/_2$ bis 3 Std wieder zur Ausgangslage zurückgekehrt. Ähnlich verlief auch die Blutdrucksteigerung am atropinisierten Tier; sie war nur etwas stärker und anhaltender. In Vergleichsversuchen mit verschiedenen Dosen (20, 30 und 50 mg Äthyl-Adrianol) am gleichen Hund zeigte sich das Ausmaß der Blutdrucksteigerung stets abhängig von der Größe der Dosis. Die Schwellendosis lag für 15—20 kg schwere Hunde zwischen 10 und 20 mg, aber auch 60 und 100 mg Äthyl-Adrianol wurden ohne Störung vertragen.

Der rasche Wirkungseintritt und die niedere Schwellendosis bei peroraler Verabfolgung zeigen, daß Äthyl-Adrianol im Magen-Darmtrakt nur wenig angegriffen und schnell resorbiert wird. Hierin und in der langen Wirkungsdauer ist es dem Sympatol deutlich überlegen.

Das Verhältnis der Wirksamkeit bei Verabfolgung durch Injektion und per os ist bei Sympatol wesentlich ungünstiger; in unseren Versuchen mußten 100 bis 200 mg Sympatol peroral gegeben werden, um Blutdrucksteigerungen nachzuweisen.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei einer Übersicht über das vorliegende Versuchsmaterial erscheint uns zunächst bemerkenswert, daß Giftigkeit und Blutdruckwirkung der untersuchten Körper keine Beziehung zueinander aufweisen. Das blutdruckunwirksame Äthyl-Sympatol und das hochwirksame Äthyl-Adrianol z. B. besitzen fast die gleiche Dosis letalis minima. Für Äthyl-Adrianol liegt die tödliche Dosis nur um 20% unter der von Sympatol, in seiner Blutdruckwirkung ist es dagegen dem Sympatol 3—5fach überlegen.

Wir sehen mit Absicht von der Angabe einer „therapeutischen Breite" ab, da die übliche Berechnung aus dem Verhältnis der blutdruckwirksamen Dosis zu der an Kleintieren gefundenen Dosis letalis minima bei den Ersatzpräparaten des Adrenalins u. E. keinen praktischen Wert besitzt. Für die Klinik ist selbstverständlich ein möglichst breiter Dosierungsbereich wünschenswert und erforderlich, doch kann dafür lediglich der Abstand der kleinsten wirksamen Dosis von derjenigen Dosis maßgebend sein, welche ohne Nebenerscheinungen noch vertragen wird. Über die letzte Größe aber, die Dosis tolerata, gibt uns die Dosis letalis minima keinerlei Auskunft.

Vergleichen wir die *Blutdruckwirkung* der einander entsprechenden Glieder beider Reihen, so ergibt sich, daß die Adrianolreihe erheblich stärker blutdrucksteigernde Eigenschaften besitzt, und daß die Blutdrucksenkung, die bei den höheren Homologen beobachtet wird, in der Adrianolreihe geringer ist. Dieser Befund bestätigt neuerlich die Regel, daß durch meta-Stellung der phenolischen OH-Gruppe die Blutdrucksteigerung weit mehr begünstigt wird als durch para-Stellung (Barger u. Dale[12], Schaumann[15] u.a.). Die Vergrößerung der Zahl der C-Atome im Stickstoff-Radikal führt bei gleichzeitiger Zunahme der Toxizität zu einer fortschreitenden Abnahme der Blutdrucksteigerung in beiden Reihen.

Über den Einfluß derartiger Veränderungen am Stickstoffradikal liegen bisher in der Literatur nur wenige Angaben vor. So fanden Barger u. Dale[12] p-Oxyphenylaethyl*aethyl*amin weniger blutdrucksteigernd als p-Oxyphenylaethyl*methyl*amin, und Chen und Mitarbeiter[13], die in der Klasse der Ephedrine einige Substanzen mit Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Pentyl-Radikal untersuchten, konnten eine Abnahme der Blutdrucksteigerung und schließlich bei den höheren Homologen Blutdrucksenkung beobachten.

Die Blutdruckwirkungen der untersuchten Substanzen haben, wie wir zeigen konnten, im wesentlichen einen peripheren Angriffspunkt an den Gefäßen. Vergleichsversuche nach Kokain- und Ergotaminvorbehandlung ergaben, daß Äthyl-Adrianol, der einzige blutdrucksteigernde Körper beider Reihen, die bekannten Reaktionen des Adrenalins unter diesen Versuchsbedingungen *nicht* oder nur in abgeschwächtem Maße besitzt und sich hierin ganz ähnlich verhält wie Sympatol. Demnach wäre Äthyl-Adrianol ebenso wie Sympatol zwischen das sympathikotrope Adrenalin und das vorwiegend myotrope Ephedrin einzureihen.

In diesem Zusammenhang möchten wir Versuche erwähnen, bei welchen am Katzenauge der Einfluß des blutdruckunwirksamen Äthyl-Sympatols mit Sympatol und Adrenalin verglichen wurde. Bekanntlich wird durch Exstirpation des Ganglion cervicale supremum die Iris für Adrenalin derart empfindlich, daß kleinste intravenös verabfolgte, am normalen Auge unwirksame Adrenalindosen die Pupille des denervierten Auges bereits deutlich erweitern. Diese Sensibilisierung war in wesentlich schwächerem Maße auch für Sympatol festzustellen. Bei Äthyl-Sympatol dagegen war die Wirkung am denervierten und innervierten Auge gleich. In Verbindung mit unseren übrigen Versuchsergebnissen spricht auch dieser Versuch dafür, daß sich die Wirkungsweise der Substanzen mit ihrer Stellung in der homologen Reihe mehr und mehr vom Adrenalin entfernt.

Für die blutdrucksenkenden Körper, vornehmlich die Butylderivate, deren erweiternde Wirkung an tonisierten Gefäßen besonders deutlich gezeigt werden konnte, müssen wir einen vorwiegend muskulären Angriffspunkt annehmen, denn sie waren imstande, die sicher an der Gefäßmuskulatur angreifende Vasokonstriktion nach Pituitrin zu durchbrechen. Ähnlich verhielt sich bei wiederholter Injektion auch Ephedrin, das nach Tainter[22] u. a. myotrop wirkt. Ein wesentlicher Unterschied

zwischen unseren Substanzen und Ephedrin liegt darin, daß Ephedrin bei Erstinjektionen die Gefäße stark verengert und erst bei wiederholter Verabreichung, besonders bei Anwendung hoher Dosen, gefäßerweiternde Eigenschaften zeigt.

Diese Gefäßerweiterung ist offenbar am Zustandekommen blutdrucksenkender Ephedrinwirkungen, die Mügge[23] ausschließlich auf Herzschädigung bezieht, maßgebend beteiligt.

Eine Abschwächung oder Umkehr der Blutdruckwirkung, die für Ephedrin[23] und in geringerem Maße auch für Veritol[24] nachgewiesen wurde, konnten wir bei wiederholten Injektionen nach keinem der Sympatol- oder Adrianolderivate beobachten. Auch fanden wir niemals eine Abhängigkeit der Richtung der Blutdruckänderung von der Größe der Dosen, wie das nach Biehler[25] bei Veritol der Fall ist.

Die *Herzwirkung* der Sympatol- und Adrianolabkömmlinge zeigt, im Gegensatz zu den großen Unterschieden in ihrer Gefäßwirkung, eine einheitliche Richtung. Wir sahen, daß alle Substanzen am geschädigten Herzen stark leistungsbessernd wirken und sich im wesentlichen nur durch den Ablauf dieser Wirkung voneinander unterscheiden. Die Anfangsglieder beider Reihen und die Äthylderivate beseitigen eine Herzschädigung sehr viel rascher als die träger wirkenden Propyl- und Butylkörper. Mit der Verlangsamung des Wirkungsablaufes nimmt auch die Beeinflussung der Frequenz ab; die erhebliche Steigerung der Schlagzahl des denervierten Herzens durch Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol, bei der im Gegensatz zu Adrenalin niemals Irregularitäten auftraten, fehlt den Butylkörpern. Sie bessern die Herzleistung fast ausschließlich durch Vermehrung des Schlagvolumens, haben aber gegenüber den Äthylderivaten den großen Nachteil, bei mehrmaliger Injektion oder Überdosierung zu schädigen, sind also auch hierin dem Ephedrin ähnlich.

Am *Gesamtkreislauf* bei pathologischen Zuständen zeigen die Äthylkörper beider Reihen ein sehr verschiedenes Verhalten. Äthyl-Sympatol ist wohl befähigt, eine Herzinsuffizienz zu beheben, versagt aber, da es nicht vasokonstriktorisch wirkt, bei peripherem Gefäßkollaps vollständig. Nur das sowohl auf Herz wie Gefäße fördernd wirkende Äthyl-Adrianol vermag bei beiden Arten von Kreislaufschädigung erfolgreich einzugreifen.

Von besonderem Interesse erscheint in diesem Zusammenhang das Verhältnis von Herz- zu Gefäßwirkung bei Äthyl-Adrianol. Die Untersuchungen von P. Trendelenburg haben gezeigt, daß sich das Sympatol in dieser Hinsicht ungleich günstiger verhält als Adrenalin. Zwischen Sympatol und Äthyl-Adrianol ergibt sich für die Herzwirkung die Beziehung 1 : 10, für die Gefäßwirkung das Verhältnis 1 : 3 bis 1 : 5, d. h. die Abstimmung von Herz- und Gefäßwirkung ist bei Äthyl-Adrianol noch weiter zugunsten der Herzwirkung verschoben. Daher konnten wir auch in keinem der Versuche trotz kräftiger Rückflußförderung und Blutdrucksteigerung eine Überlastung des Herzens beobachten.

Die bedeutend verlängerte *Wirkungsdauer*, die alle Glieder beider Reihen vor den Ausgangskörpern Sympatol und Adrianol auszeichnet,

gab einen Hinweis auf ihre größere Beständigkeit im Organismus. Den Beweis dafür brachten unsere Versuche mit *peroraler* Verabfolgung von Äthyl-Sympatol und Äthyl-Adrianol an nichtnarkotisierten Hunden. Beide Körper waren auch bei dieser Art der Darreichung rasch und sicher wirksam, wie wir an der Frequenzsteigerung nach Äthyl-Sympatol und der Blutdrucksteigerung nach Äthyl-Adrianol entnehmen konnten.

Zusammenfassnng.

1. In Versuchen an Katzen und Hunden werden die Kreislaufwirkungen von zwei homologen Reihen untersucht, die sich vom Sympatol und Adrianol (Meta-Sympatol) durch den Austausch der Methylgruppe am Stickstoff gegen ein Äthyl-, Propyl- oder Butylradikal ableiten.

2. Bezüglich der Blutdruckwirkung wird festgestellt, daß die Glieder der Sympatol-Reihe weniger drucksteigernd wirken als die der Adrianol-Reihe. Bei den Sympatolabkömmlingen erlischt der blutdrucksteigernde Effekt schon beim Äthyl-, bei der Adrianol-Reihe dagegen beim Propylderivat; die Endglieder beider Reihen wirken blutdrucksenkend.

3. Die Blutdruckänderungen werden auf Grund von Durchströmungsversuchen auf periphere Gefäßwirkungen zurückgeführt und der Angriffspunkt an Hand von Versuchen mit Kokain, Ergotamin und Pituitrin erörtert. Bei wiederholten Injektionen und Überdosierung wurde nie eine Abschwächung oder Umkehr der Gefäß- und Blutdruckwirkung beobachtet.

4. Am künstlich geschädigten Herzen wirken alle untersuchten Körper leistungssteigernd. Sie unterscheiden sich im wesentlichen durch die Schnelligkeit des Wirkungsablaufes und den Grad der Frequenzsteigerung, die bis zu den Endgliedern abnehmen.

5. Bei Kreislaufschädigungen erweist sich Äthyl-Sympatol nur bei isolierter Herzinsuffizienz wirksam, Äthyl-Adrianol dagegen vermag außer einer Herzinsuffizienz auch eine Gefäßinsuffizienz günstig zu beeinflussen.

6. Die Äthylderivate haben verglichen mit Sympatol und Adrianol eine bedeutend längere Wirkungsdauer und sind sehr gut peroral wirksam.

Literatur.

[1] Trendelenburg, P.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, 1987. — [2] Bülbring, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — [3] Kuschinsky, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 290 (1930). — [4] Lasch, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **124**, 231 (1927). — [5] Ehrismann u. Maloff: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **136**, 172 (1928). — [6] Hochrein u. Keller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 37 (1930). — [7] Tainter u. Seidenfeld: J. of Pharmacol. **40**, 23 (1930). — [8] Kuschinsky u. Oberdisse: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 46

(1931). — [9] Flecken: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 400 (1932). — [10] Tainter, M. L.: Arch. internat. Pharmacodynamie **42**, 128 (1932). — [11] Tainter u. Stockton: Amer. J. med. Sci. **185**, 832 (1933). — [12] Barger u. Dale: J. of Physiol. **41**, 19 (1910). — [13] Chen, Wu u. Hendriksen: J. of. Pharmacol. **36**, 363 (1929). [14] Hasama Bun-ichi: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **153**, 161 (1930). — [15] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 127 (1931). — [16] Munch u. Hartung: J. Amer. pharmac. Assoc. **19**, 356 (1930). — [17] Pissemski, S. A.: Pflügers Arch. **156**, 426 (1914). — [18] Krayer, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 1 (1931). — [19] Rössler u. Unna: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 288 (1934). — [20] v. Anrep, Barsoum u. Talaat: J. of Physiol. **86** 431, (1936). — [21] Konzett u. Unna: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **186**, 694 (1937). — [22] Tainter, M. L.: J. of Pharmacol. **36**, 569 (1929). — [23] Mügge, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **165**, 230 (1932). — [24] Mügge, H.: Klin. Wschr. **16**, 1241 (1937). — [25] Biehler, W.: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937).

Prof. Dr. Klaus Unna, University of Illinois, College of Medicine
Dept. of Pharmacology, Chicago, Ill., USA.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 235—248 (1951).

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Werner Hueck).

Der Cholesterinspiegel des Leichenblutes bei malignen Geschwülsten. Seine Beziehung zur Leberfunktion und zur Strahleneinwirkung.

Von
F. Hartl.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 22. Februar 1951.)

Die Frage nach dem Cholesterinumsatz im menschlichen und tierischen Organismus hat mit der Erkenntnis, daß die Lebensfähigkeit der Zelle nicht ausschließlich vom Eiweiß abhängt, immer größere Bedeutung erlangt und ist von den verschiedensten Gesichtspunkten aus gründlich bearbeitet worden. Diese Untersuchungen haben über Herkunft, Umsetzung und Ausscheidung des Körpercholesterins sowie über das Verhalten des Cholesterinspiegels bei krankhaften Zuständen gewisse Klarheit gebracht. Trotzdem ist noch vieles Hypothese, vgl. die zusammenfassenden Darstellungen bei Leupold, Wacker, Hueck, Bürger, Thannhauser u. a.

Die vorliegende Bearbeitung geht von quantitativen Cholesterinbestimmungen im Leichenblut aus und berücksichtigt insbesondere die Verhältnisse bei malignen Tumoren und anatomisch-histologisch faßbaren Leberparenchymerkrankungen. Sie erscheint trotz der Vielzahl klinischer und experimenteller Untersuchungen schon aus zwei Gründen sachdienlich. Einmal erlaubt die postmortale Untersuchung ohne besondere Schwierigkeiten vergleichende Cholesterinbestimmungen aus den verschiedenen Gefäßprovinzen, die experimentell nur durch schwierige, den Cholesterinhaushalt verändernde Operationen möglich sind. Zweitens können gewisse, intravital meist nicht feststellbare Faktoren, die den Blutcholesteringehalt unabhängig vom Krankheitsgeschehen beeinflussen, ausgeschaltet werden. Es ist demnach zu erwarten, daß die Cholesterinbestimmung aus dem Leichenblut nicht nur eine beziehungsreichere, sondern auch eine objektivere Betrachtungsweise des Blutcholesterins zuläßt.

Die Arbeit umfaßt ein Gesamtmaterial von über 250 Einzelbestimmungen sowie eine Reihe tierexperimenteller Untersuchungen. An 157 Fällen des laufenden Sektionsgutes wurde regelmäßig der Cholesteringehalt des Herzblutes (Einmündung der vena cava inf. in den re. Vorhof), des Pfortaderblutes und bei 100 Fällen auch

der Blasengalle bestimmt. Vergleichsweise wurde Blut auch aus anderen Gefäßbezirken entnommen um regionäre Verschiedenheiten zu erfassen. Weiterhin werden neben Normalwertbestimmungen am Lebenden 27 Fälle von malignen Geschwülsten berücksichtigt, wobei die Cholesterinbestimmungen jeweils vor und nach einer Bestrahlung durchgeführt werden konnten.

Es sollte im einzelnen festgestellt werden:

1. ob die postmortale Cholesterinbestimmung Werte liefert, die mit den bekannten klinischen Werten übereinstimmen;

2. wie der Cholesteringehalt des Herz- und Pfortaderblutes sowie der Blasengalle auf Leberparenchymerkrankungen reagiert.

3. ob der Gesamtcholesteringehalt bzw. das Verhältnis des gebundenen : freien Cholesterin im Blut bei Trägern maligner Geschwülste charakteristische Veränderungen aufweist, die eine gesonderte Betrachtung rechtfertigen;

4. ob das Blutcholesterin abhängig ist von der histiotypischen Differenzierung des Blastoms, seinem Sitz, dem Grad der Metastasenbildung, bzw. dem Anteil an Tumornekrosen;

5. ob der Cholesteringehalt des Blutes durch Strahlen (Röntgen-Radium-Kurzwellen) besonders beeinflußt wird.

Meines Wissens ist eine solche Untersuchung unter diesen Gesichtspunkten bis jetzt noch nicht durchgeführt worden. Eine Hauptrolle spielt dabei die Frage, ob die Veränderungen des Blutcholesterins bei Krebskranken nur sekundäre Folge der malignen Neubildung sind oder eine primäre Abirrung des Sterinstoffwechsels vermuten lassen.

Methodik.

Die Bestimmungen im Leichenblut (Plasma und Blutkörperchen) führten wir nach Schmidt-Thomé durch. Jede Bestimmung wurde doppelt ausgeführt. (Fehlerquelle der Methode ± 5%). Die Mittelwerte von Schmidt-Thomé, Schettler und Goebel betragen für das Gesamtchol. 210 mg%, für freies Chol. 60 mg% und für gebundenes Chol. 141 mg%. Bei unseren Normalwertbestimmungen am Lebenden wurde ein Mittelwert von 157 mg% für Gesamtchol. und dementsprechend auch niedrigere Werte für freies und gebundenes Chol. errechnet. (Verhältnis 1 : 1,47). Diese Diskrepanz ist jedoch nur eine scheinbare, zeigen doch die genannten Autoren, daß der Cholesteringehalt des Blutplasmas während der Kriegsjahre von 1941—47 im Durchschnitt um 60 mg% für Gesamtchol. und etwa 20 mg% für freies und gebundenes Chol. gesunken ist. Sie führen die Reduktion des Serumcholesterins auf die Mangelernährung und den erniedrigten Fettstoffwechsel zurück und bestätigen damit die Erfahrungen von Rosenthal und Patrzek aus den Nachkriegsjahren von 1914—18. Demnach ist es nicht verwunderlich, wenn die Untersuchungen am Leichenblut noch niedrigere Gesamt- und Esterwerte ergeben — Durchschnittswert für Gesamtchol. 134 mg%, Verhältnis Ester : Frei 1 : 1,12 — handelt es sich doch durchwegs um Kranke, die nach längerem Krankenlager in meist stärker reduziertem Allgemeinzustand verstorben sind. Die Bestimmungen beim Lebenden wurden zum Teil nach der Methode von Autenrieth-Funk durchgeführt. Der errechnete Mittelwert für Gesamtchol. beträgt 180 mg% (Fehlerquelle der Methode ± 12%).

Untersuchungen am Leichenblut.

An Faktoren, die den Blutcholesterinspiegel terminal bzw. postmortal störend beeinflussen können, sind zu erwähnen: Die vorausgegangene Erkrankung, Veränderungen der Blutflüssigkeit, Hämolyse,

Temperatur, Zeitintervall Tod — Sektion, postmortale Autolyse, bakteriell bedingte Fäulnisprozesse. Unter den ausgewerteten Fällen ist keiner, in dem der Tod plötzlich und aus voller Gesundheit heraus erfolgt wäre. Stets ist ein längeres Siechtum vorausgegangen, das unabhängig vom Grundleiden den Cholesteringehalt des Blutes verändert. Aus begreiflichen Gründen war der direkte Vergleich intravitaler und terminaler Werte ein und desselben Patienten mit postmortal gefundenen nicht möglich. Das Ausmaß der agonal bedingten Störungen im Cholesterinhaushalt läßt sich also aus der vorliegenden Arbeit nicht ohne weiteres ablesen. Experimentelle Untersuchungen am Kaninchen ergaben keinen Hinweis dafür, daß der Cholesteringehalt des Blutes agonal und in den ersten 15 min nach dem Tod in Herz- und Pfortaderblut meßbar verändert wird. Einen weiteren Hinweis geben die aus den Einzelbestimmungen und aus der Zusammenstellung der verschiedenen Krankheitsgruppen gewonnenen Erfahrungen. Krankheiten, die beim Lebenden meist mit Hyper- oder Hypocholesterinämie einhergehen, zeigen auch post mortem Erhöhung bzw. Erniedrigung des Serumcholesterins — mit den auch für intravitale Untersuchungen geltenden Einschränkungen.

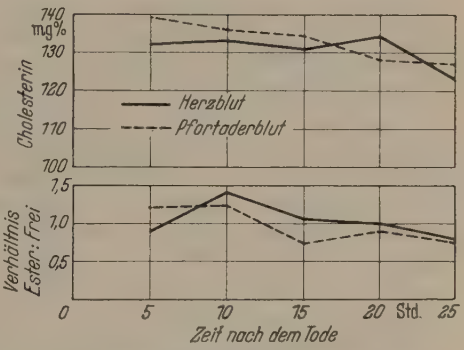


Abb. 1. Zeitintervall: Tod, Sektion und Serumcholesterin.

Die Abb. 1 verschafft einen Überblick über die Veränderungen des Herz- und Pfortadercholesterinspiegels innerhalb der ersten 25 Std nach dem Tode, unabhängig von der Todesursache. Unberücksichtigt blieb bei allen Darstellungen die Relation Gesamtchol. des Plasmas : freiem Chol. der Blutkörperchen sowie die Beziehung „Freies Chol. des Plasmas : freiem Chol. der Blutkörperchen", da sich hierbei keine wesentlich neuen Gesichtspunkte ergaben.

Mit dieser Kurve sind die wesentlichsten postmortal auftretenden Schwankungen des Plasmacholesterins zu erfassen; lediglich die Hämolyse, deren Stärkegrade nicht allein vom Zeitintervall Tod — Sektion abhängig ist, soll gesondert betrachtet werden.

Die Auswertung der vorliegenden Kurve ergibt im einzelnen:

1. Eine nennenswerte Veränderung im Gesamtcholesteringehalt des Herzblutes tritt während der ersten 20 Std nach dem Tod nicht ein. In den folgenden Stunden sinken die Durchschnittswerte um etwa 10 mg% ab.

2. Das Verhalten des gebundenen : freien Cholesterins steigt im Herzblut innerhalb der ersten 10 Std von 0,9 auf 1,40 bei gleichbleibendem

Gesamtcholesterin an, sinkt dann langsam entsprechend dem Gesamtcholesterin ziemlich gleichmäßig ab. Der anfänglichen Estersynthese folgt also Hydrolyse nach.

3. Im Pfortaderblut setzt die Reduktion der Gesamtcholesterinwerte schon unmittelbar nach der 5-Std-Grenze ein und beträgt im Mittel ebenfalls 10 mg%. Ein nennenswerter Esteranstieg fehlt dagegen. Die Esterspaltung geht ungefähr parallel mit der Abnahme des Gesamtcholesterins.

Vergleichsweise an einzelnen Fällen vorgenommene Bestimmungen zu verschiedenen Zeiten post mortem ergaben die gleiche Gesetzmäßigkeit. Das Ausmaß der postmortal verursachten Veränderungen im Serumcholesterin ist demnach so gering, daß es ohne weiteres erlaubt ist, aus Untersuchungen am Leichenblut innerhalb der ersten 20 Std p. m. Rückschlüsse auf intravitale Verhältnisse zu ziehen.

Shope berichtet über postmortale Spaltung der Cholesterinester im Leichenblut bei verschiedenen Tierarten, wobei dem erhöhten CO_2-Gehalt keine Bedeutung zukommt. Da er im Leichenblut kein esterspaltendes Ferment findet, verlegt er den Vorgang der Spaltung ins Gewebe. Sperry beschreibt eine langsam verlaufende Hydrolyse im Plasma bei regressiven Vorgängen, die saure Reaktion hervorrufen. Ähnlich Cytronberg, der eine Spaltung der Serumester auch ohne Zugabe von Leberbrei erzielen konnte.

Während die vorgenannten Autoren nur über eine Hydrolyse der Serumester bei Autolyse berichten, zeigen unsere Untersuchungen zunächst Esterzunahme im Herzblut, die nach etwa 10 Std in eine Hydrolyse umschlägt. Um dem Einwand zu begegnen, daß die beobachtete Estersynthese im Herz- bzw. peripheren Blut möglicherweise ein statistischer Fehler sei oder durch Bakterien im Leichenblut bedingt ist, führten wir analog den Sperryschen Untersuchungen folgende Versuchsreihe durch.

Aus dem Herzen (später auch aus der Femoralvene) wurden wenige cm^3 Blut unter sterilen Kautelen entnommen, zentrifugiert und der Cholesteringehalt des Serums bestimmt. Einen Teil des Zentrifugats (2 Ösen) überimpften wir auf Blutagar. Der Rest wurde in einem zugeschmolzenem eigens hergestellten Glasröhrchen mit möglichst dünnem Hals 3 Tage im Brutschrank bei 37° bebrütet. Anschließend wurde noch einmal auf Blutagar überimpft und der Cholesteringehalt des so vorbehandelten Serums erneut bestimmt. Vorausgesetzt, daß alle Untersuchungen von der Blutentnahme bis zur letzten Bestimmung steril durchgeführt wurden, gelang es fast immer, sterile Platten zu erhalten und nur dieses Material wurde weiter verarbeitet (s. Tab. 1).

Aus den Ergebnissen der Abb. 1 und der Tab. 1 möchten wir den Schluß ziehen, daß für die Estersynthese im Leichenblut das ausschließlich im Plasma vorkommende esterbildende Ferment (Sperry) verantwortlich ist. Möglicherweise sind darüber hinaus für die nachfolgende Esterspaltung eine fehlgesteuerte Enzymreaktion (Willstädter), pH-Wertverschiebung oder bakteriell bedingte Fäulnisprozesse von Be-

deutung. Die Blutkörperchen nehmen an dieser Reaktion nicht teil; ihr Cholesterin, das sogenannte Bausteincholesterin, hat zum kreisenden Stoffwechselcholesterin keine direkten Beziehungen.

Tabelle 1. *Veränderung des Serumcholesterins vor und nach einer Bebrütung.*

Anzahl der Std post mortem	Vor Bebrütung		Nach Bebrütung	
	Ges. Ch. mg%	Ester: Frei	Ges. Cho- mg%	Ester: Frei
Innerhalb d. ersten 10 Std post mortem.	148	1,3	156	2,2
Nach der 10 Std Grenze	148	1,0	152	0,8

Als letzter Punkt war die Abhängigkeit des Serumcholesterins von der Hämolyse zu prüfen. Rein theoretisch ist bei Strukturverlust der Erythrozyten ein Austritt freien Cholesterins ins Plasma durchaus denkbar. Die in der Tab. 2 zusammengestellte Relation: Stärkegrad der Hämolyse und zugehöriger Durchschnittswert für Gesamtcholesterin zeigt eine deutliche Zunahme der Plasmawerte bei fortschreitender Hämolyse. Wie aus den elektronenmikroskopischen Beobachtungen von Wolpers-Ruska-Schmidt-Thomé hervorgeht, ist mit der durch Wasser oder Osmose bedingten Hämolyse eine mehr oder weniger vollständige Auflösung der Erythrozytenstruktur verbunden, die besonders hochgradig bei der Saponinhämolyse ist. Es ist wahrscheinlich, daß mit der strukturellen Desorganisation die Bindung des Cholesterins ans Zelleiweiß verlorengeht und freies Cholesterin ins Plasma übertritt. Diese Fehlerquelle wird im weiteren Verlauf der Untersuchungen besonders berücksichtigt, Fälle mit stark fortgeschrittener Hämolyse werden nicht mehr ausgewertet (mehr als ein + Zeichen).

Tabelle 2. *Stärkegrad der postmortalen Hämolyse und des Serumcholesterins.*

Stärkegrad der Hämolyse	Herzblut Ges. Chol. mg%	Pfortader Ges. Chol. mg%	Anzahl d. Fälle
Keine Hämol.	126	138	82
±	128	134	42
+	134	134	25
++	137	148	8

Plasmacholesterin bei den einzelnen Krankheitsgruppen unter besonderer Berücksichtigung des anatomisch-histologischen Leberbefundes.

Nachdem die Brauchbarkeit postmortaler Cholesterinwerte genügend überprüft und erwiesen war, versuchten wir, die Schwankungen im Serumcholesterin der einzelnen Krankheitsfälle epikritisch zu analysieren. Dabei ergab sich, daß der Cholesteringehalt unabhängig vom

Grundleiden im Einzelfall u. a. durch Alter, Ernährungszustand, Konstitution, vor allem aber durch den Stärkegrad der bestehenden Arteriosklerose und den Funktionszustand der Leber, oft erheblich variiert wird.

So steigt der Cholesterinspiegel des Herzblutes bei unseren Fällen mit zunehmendem Alter von rund 130 mg% bei 20 Jahren auf rund 150 mg% bei 60—80 Jahren an, ein Ergebnis, das die Untersuchungen von Bürger-Mühlbock-Bockelmann bestätigen. Daß der Durchschnittswert für das Gesamtcholesterin im Herzblut bei stark kachektischen Personen höher (143 mg%) liegt, als bei Patienten in sehr gutem Ernährungszustand (123 mg%) entspricht durchaus den Vorstellungen einer Cholesterinmobilisation aus den Depots wie sie Leupold und Arndt bei Hungerzuständen im Tierversuch beobachten konnten. Mjassnikow und Grewing zeigen außerdem noch, daß jeder Konstitutionstypus seine eigene Norm der Cholesterinämie hat. Werte über die konstitutionelle Norm hinaus fanden sie bei Gicht, Fettsucht usw. Gleichzeitig weist Shope darauf hin, daß die Höhe des Cholesteringehalts weitgehend von Erbfaktoren beeinflußt wird. Mit der Abnahme der cholesterolytischen Fähigkeit des Blutserums im höheren Alter versucht Keeser die Tatsache zu erklären, daß bei der Arteriosklerose im allgemeinen erhöhte Cholesterinwerte im Serum gefunden werden, die nach den vorliegenden Ergebnissen mit dem Stärkegrad der anatomischen Veränderungen um rund 40 mg% für Gesamtcholesterin und 0,5 für das Verhältnis Esterchol. : freiem Cholesterin zunehmen. Ernährungsbedingte oder rhythmische Niveauunterschiede fallen für unsere Betrachtung nicht so sehr ins Gewicht, wie medikamentöse bzw. durch Strahlen ausgelöste Veränderungen im Cholesterinhaushalt des Organismus.

Die Auswertung regionärer Verschiedenheiten erbrachte das Ergebnis, daß der Cholesteringehalt der Pfortader im Durchschnitt höher war als im Blut des rechten Herzens bzw. anderer vergleichsweise untersuchter Gefäßprovinzen. Eine Ausnahme machten sämtliche Fälle von unbehandelten malignen Tumoren, vereinzelte Tuberkulosen, schwerere Pneumonien und Kranke mit fortgeschrittenen Leberparenchymschäden. Die Hypocholesterinämie, verbunden mit Estersturz im Herz- und Pfortaderblut bei anatomisch-histologisch feststellbaren Leberparenchymveränderungen, war so charakteristisch und konstant zu beobachten, daß eine gesonderte Betrachtung im Rahmen der vorliegenden Betrachtung schon aus diesem Grund heraus gerechtfertigt erschien. Außerdem sollte die Bilanzuntersuchung des die Leber durchströmenden Blutes und der Galle Aufschluß geben über die Beteiligung der Leber am Cholesterinumsatz. Von klinischer Seite wird besonders auf das Absinken der Cholesterinester bei fortschreitender Leberdystrophie aufmerksam gemacht (Bürger-Thannhauser-Eppinger-Wendt-Stroebe), während das Verhalten des Gesamtcholesterins unterschiedlich beurteilt wird (Stroebe-Adler-Lemmle). Der gemeinsame Nenner sämtlicher Arbeiten ist jedoch das Postulat, daß die Leber funktionell eng mit dem Cholesterinhaushalt verbunden ist.

Wir bestimmten bei 100 Fällen des täglichen Sektionsmaterials den Cholesteringehalt des Herz- und Pfortaderblutes sowie der mittels feinporigem Gazestreifens

filtrierten Blasengalle. Die Filtration erwies sich als unumgänglich notwendig, um gröbere Verunreinigungen zu vermeiden. Aus dem gleichen Grund wurden speziell für diese Untersuchungen nur Fälle mit makroskopisch unveränderter Gallenblase, ohne Anhalt für Steinbildung verwendet.

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind:

1. Mit zunehmender Leberschädigung sinkt der Gesamtcholesteringehalt des Herzblutes von 149 mg% bei ungeschädigter oder nur unwesentlich veränderter Leber (Histol.: Zentral degenerative Prozesse mit mäßiger Verfettung-Stauungsatrophie-brauner Atrophie der Läppchenzentren stärkeren Grades) auf 97 mg% bei erheblicher Leberschädigung ab. (Histol.: Leberzirrhose — erheblich degenerativ-nekrobiotische Zellveränderungen, akute Leberdystrophie-Hepatitis mit Insuffizienzerscheinungen — ausgedehnte zentrale Nekrosen — fortgeschrittene Grade von Metastasenbildung, wenn das Restparenchym gleichzeitig fortgeschrittene degenerativ-entzündliche oder Umbauprozesse erkennen ließ.) Die gleiche Reduktion findet sich auch in der Pfortader. Verminderung des Gesamtcholesterins von 150 auf 95 mg%. Das Gallecholesterin sinkt schon bei leicht geschädigter Leber von 700 auf etwa 520 mg% ab.

2. Ähnlich verhalten sich auch das gebundene und freie Cholesterin. Estersturz von 1,5 auf 0,4 im Herzblut und von 1,2 auf 0,2 im Pfortaderblut. Das Gallecholesterin bleibt dagegen weitgehend unverändert (Verhältniswert jeweils um 0,5).

3. Die Differenz der Herz- und Pfortaderwerte verhält sich sowohl für das Ester- als auch für das Gesamtcholesterin im wesentlichen gleichsinnig. Die verschiedentlich festgestellten Unterschiede bewegen sich innerhalb der Fehlergrenze der Methode von $\pm 5\%$.

Das Verhalten des die Leber durchströmenden Blut- und Gallecholesterins legt den Schluß nahe, daß die Beteiligung der Leber am Cholesterinhaushalt — zumindest für die Esterbildung — nicht sehr wesentlich sein kann, daß das Verh.Geb.: freiem Cholesterin nicht durch die Leber, sondern durch einen außerhalb der Leber gelegenen Regulationsmechanismus aufrechterhalten wird. In Übereinstimmung mit Sperry und Klein glauben wir, daß der Estersturz bei schweren Leberparenchymschäden Folge der Cholämie mit Vermehrung der Gallensäuren (insbesondere der Cholsäure) und des freien Cholesterins im Blut ist, wodurch das bis jetzt nur im Blutserum nachgewiesene esterbildende Ferment des Plasmas (Sperry) gehemmt wird.

Der Serumcholesteringehalt bei malignen Tumoren.

Wie die vorausgehenden Erläuterungen zeigen, kann das Niveau des Blutcholesterinspiegels von sehr zahlreichen, teils bekannten, teils nicht erfaßbaren Faktoren so weitgehend verändert werden, daß man

selbst aus einer größeren Anzahl von Einzelbestimmungen nur mit äußerster Vorsicht allgemeingültige Gesetzmäßigkeiten für eine bestimmte Krankheitsgruppe, z. B. die malignen Neubildungen, ableiten darf. Tab. 3 zeigt, daß die malignen Geschwülste im Durchschnitt mit Hypocholesterinämie und Esterverminderung in Herz- und Pfortaderblut einhergehen. In Zahlen ausgedrückt beträgt die Verminderung des Blutcholesterins ohne Berücksichtigung der Bestrahlungsfolgen, berechnet auf die Gesamtzahl der p.m. Untersuchungen ohne Geschwülste: im Herzblut rund 8% für Gesamtcholesterin bzw. 25% für die Ester; im Pfortaderblut etwa 12% für Gesamtcholesterin bzw. 22% für die Ester. Diese Prozentwerte entsprechen den beim Lebenden festgestellten Unterschieden zwischen Gesunden und Krebskranken. Im ganzen wurde der Cholesteringehalt von Herz- und Pfortaderblut bei 100 Tumorfällen mit verschiedener Lokalisation und Differenzierung der Geschwülste untersucht.

Tabelle 3. *Vergleichende Zusammenstellung der untersuchten Krankheitsgruppen.*

Krankheitsgruppe	Herzblut		Pfortader	
	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei
Gesamtfälle der p. m. Untersuch..	134	1 : 1,1	145	1 : 0,8
Gesamtfälle ohne maligne Tumoren	138	1 : 1,2	140	1 : 0,9
Allgemeinerkrankungen (Leber, Niere u. ä.)	132	1 : 1,15	146	1 : 0,9
Herzkrankheiten	133	1 : 1,35	143	1 : 1,2
Lues - Tuberkulose	138	1 : 1,1	131	1 : 0,8
Maligne Blastome	127	1 : 0,9	124	1 : 0,7

Ist die Serumhypocholesterinämie der bösartigen Geschwülste eine Folge der Geschwulstbildung selbst, oder verändert der Funktionsausfall des tumortragenden Organs den Cholesterinspiegel bzw. sind vom Tumorgeschehen unabhängige Faktoren für die Erniedrigung des Serumcholesterins verantwortlich? In der Tab. 4 wurde versucht, die Abhängigkeit des Blutcholesterinspiegels vom Ort der Tumorbildung und der histiotypischen Differenzierung des Blastoms einander gegenüberzustellen. Dabei ergab sich eine weitgehende Unabhängigkeit des Serumcholesterins vom Ort der Tumorbildung. Lediglich die Primärtumoren der Mamma fallen durch eine gewisse Hypercholesterinämie und die Lungenkarzinome durch eine deutliche Cholesterinverminderung auf. Für alle übrigen Blastome liegen die Serumwerte im Bereich der Norm. Macht man dagegen die histiotypische Differenzierung der Geschwulst zum leitenden Prinzip der tabellarischen Darstellung, so findet

sich von selbst eine Erklärung für die relative Selbständigkeit des Serumcholesterins bei den verschiedenen Primärtumoren. Dem Funktionsausfall des tumortragenden Organs kommt jedenfalls keine tragende Bedeutung für die Gestaltung des Blutcholesterins zu. Wir fanden weder für eine resorptive Beteiligung des Magens am Cholesterinhaushalt noch für eine hormonelle Steuerung durch die inkretorischen Drüsen bzw. die Leber einen Anhalt.

Tabelle 4. *Art und Sitz der Primärtumoren und Cholesterin in mg%.*

Ort der Tumorbildung	Herzblut		Pfortader		Anzahl der Fälle
	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei	
Mamma	149	1 : 1,42	128	1 : 0,9	10
Harnblase, Genitale .	132	1 : 0,8	131	1 : 0,7	23
Sonstige Tumoren . .	131	1 : 0,8	111	1 : 0,5	12
Magen - Darmtrakt .	128	1 : 1,1	124	1 : 0,6	26
Inkret-System . . .	127	1 : 1,6	138	1 : 1,4	7
Generalisierte Blastome	123	1 : 1,3	125	1 : 1,4	6
Primäre Lungentumoren	119	1 : 0,4	116	1 : 0,4	16
Mittelwerte für alle Tumorfälle	127	1 : 0,9	124	1 : 0,7	100
Histiotypische Differenzierung d. Blastoms	**Herzblut**		**Pfortader**		**Anzahl der Fälle**
	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei	Ges. Chol. mg%	Ester: Frei	
Scirrhöse Karzinome	146	1 : 0,7	144	1 : 0,8	8
Ca. Simplex solidum .	137	1 : 0,8	136	1 : 0,8	24
Plattenepithel-karzinome	133	1 : 1,1	136	1 : 0,7	17
Adenokarzinom . . .	132	1 : 0,9	130	1 : 0,6	26
Undifferenzierte Karzinome	117	1 : 0,8	111	1 : 0,7	22
Sonstige Maligne Tumoren	115	1 : 0,7	109	1 : 0,6	11
Kleinzellige Tumoren	108	1 : 0,6	107	1 : 0,6	10

Natürlich war es nicht immer möglich, den Tumor einheitlich zu klassifizieren, weshalb z. B. beim Carzinoma simplex solidum partim adenomatosum die Werte sowohl beim soliden Karzinom als auch beim Adenokarzinom eingetragen wurden. Die Anzahl der Einzelbeobachtungen differiert natürlich dementsprechend. Die stärksten Grade der Hypocholesterinämie zeigen auch hier das kleinzellige Karzinom (Out-Cell Tumor der angelsächsischen Literatur), das Hauptkontingent

der von uns beobachteten Bronchialkarzinome, weiter die „undifferenzierten Blastome" (alveoläre Karzinome, reinzellige Zytoblastome bzw. Meristome) und die „sonstigen Tumoren" (lymphoretikuläre Blastome, Sarkome, Endotheliome, Lymphogranulome mit Übergang in Sarkom, Malignes Seminom und ein Fall einer tumorähnlichen metastasierenden Mukormykose). Werte im Bereich der Norm fanden sich beim Adenokarzinom und reifen Plattenepithelkarzinom, Hypercholesterinämie beim soliden Karzinom und beim Skirrhus. Die erhöhten Esterwerte beim Plattenepithelkarzinom bringen wir mit der erhöhten Zerfallsneigung dieser Tumoren in Zusammenhang. Im Gegensatz zu seinem niedrigen Reifegrad hat das solide Karzinom auffallend hohe Werte für Gesamt- und Estercholesterin. Dieses Mißverhältnis ist wahrscheinlich ein rein zufälliges und hängt mit der Klassifizierung der Geschwülste zusammen. Die Behauptung, daß die maligne Neubildung als solche maßgebender an der Gestaltung des Serumcholesterinspiegels beteiligt ist als der Ort der Tumorbildung, läßt sich sehr eindrucksvoll an einem Teil der Einzelbeobachtungen demonstrieren. So gehen z. B. die kleinzelligen Bronchialkarzinome ziemlich konstant mit Hypocholesterinämie einher, nicht dagegen die reifen Plattenepithelkarzinome. Ähnlich verhalten sich auch die verschieden differenzierten Magenkarzinome. Auch hier fanden sich die niedrigsten Cholesterinwerte bei den unreifen Blastomen, während beim Skirrhus oft Werte von 150 mg% Gesamtcholesterin und mehr im Serum gefunden wurden.

Gerade dieses unterschiedliche Verhalten des Serumcholesterins bei den verschieden ausgereiften Tumoren des gleichen Organs legt die Vermutung besonders nahe, daß der Cholesteringehalt des Blutes in erster Linie von der Wachstumsintensität und damit von der Bösartigkeit des Tumors bestimmt wird. So ist es sicher auch kein Zufall, wenn gerade das skirrhöse Karzinom die höchsten Gesamt- und Esterwerte aufzeigt.

Zu einer ähnlichen Auffassung kamen Bierich-Detzel und Lang durch ihre Untersuchungen an Normal- und Tumorgewebe. Lang verglich an Hand eines größeren Operationsmaterials den Cholesteringehalt des Tumors mit der Überlebenszeit des Tumorträgers und kam zu dem Ergebnis, daß die Überlebenszeit der Patienten um so kürzer ist, je höher der Cholesteringehalt des Tumors war. In weiteren Untersuchungen an Flexner-Jobling Karzinomen und Jensen-Sarkomen wiesen sie nach, daß der Cholesteringehalt des Tumors von der Wachstumsintensität abhängt. So ergab das relativ langsam wachsende Jensen-Sarkom stark erhöhte Werte für Gesamt- und Estercholesterin, während das Flexner-Jobling-Karzinom mit noch geringerer Wachstumsintensität diese Erhöhung nicht oder nur kaum anzeigt. Eine Vermehrung der Ester war nicht nachzuweisen. Eine exakte Erklärung für das Verhalten des Tumorcholesterins konnten auch sie nicht angeben.

Außer Lokalisation und Differenzierung der Tumoren war zu prüfen, wie die Metastasenbildung, die Tumornekrosen (mikr. und makrosk.) bzw. die Tumorkachexie den Cholesterinstoffwechsel beeinflussen. Es

wurde nur der Gesamtcholesteringehalt des Herzblutes berücksichtigt. (Das Pfortadercholesterin zeigt dabei die gleichen Veränderungen, eine gesonderte Darstellung unterblieb deshalb.) Die Verminderung des Plasmacholesterins von 141 mg% auf 126 mg% bei Metastasenbildung überhaupt ist ebenso wie die stärker ausgeprägte Hypocholesterinämie bei Leber- und Lungenmetastasen gegenüber den Skelett- und Lymphdrüsenmetastasen mit dem Malignitätsindex der betreffenden Geschwülste erklärbar. Eine sichere organgebundene Abhängigkeit konnten wir auch hier nicht feststellen. Die Intensität der Metastasenbildung verursacht keine gesetzmäßigen Schwankungen im Serumcholesteringehalt. Die zu erwartende Hypocholesterinämie wird nämlich meist durch eine „scheinbare" Hypercholesterinämie kompensiert. Diese ist dann, wie die relative Serumhypercholesterinämie bei Tumorkachexie (Gesamtcholesterin bei fortgeschrittener Kachexie 130 mg% und 115 mg% bei ausreichendem E.Z.), als Transporthypercholesterinämie aufzufassen und mit der Ausschüttung von Cholesterin ins Blut bei Hungerzuständen vergleichbar (Arndt-Leupold). Das Ansteigen des Serumcholesterins bei stärker nekrotisierenden Geschwülsten möchten wir als Folge einer Lipoidverarmung in bradytrophen Geweben (Bloor-Bronstein-Wolkensohn) auffassen.

Der Cholesteringehalt des Blutserums wird demnach in erster Linie von der wachsenden Geschwulst und ihrem biologischen Verhalten bestimmt. Metastasenbildung, Tumornekrosen und Kachexie haben einen wesentlichen Einfluß auf die Höhe des Cholesterinspiegels, nicht dagegen der Ort der Tumorbildung. Unabhängig vom Blastom sind eine Reihe anderer zum Teil physiologischer Faktoren, wie Lebensalter, Ernährungszustand, Atherosklerose, Begleitkrankheit, Funktionszustand der Leber, im Einzelfall an der Gestaltung des Serumcholesterinspiegels maßgeblich beteiligt. Daraus folgt, daß dem Serumcholesterin nur eine untergeordnete, sekundäre Bedeutung bei manifesten Geschwülsten zukommt. Die eingangs angeschnittene Frage: Gehen maligne Geschwülste mit Hyper- oder Hypocholesterinämie einher, läßt sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und nach Ausschluß der erwähnten störenden Faktoren objektiv nur so beantworten:

1. Gewisse epitheliale (kleinzellige, rein zellige, alveoläre Karzinome bzw. Meristome) und mesenchymale Tumoren führen zur Verminderung des Gesamt- und vor allem des Estercholesterins in Herz- und Pfortaderblut.

2. Plattenepithel-, Adeno- und skirrhöse Karzinome zeigen keine gesetzmäßige Verminderung des Serumcholesterins.

3. Der Serumcholesterinspiegel ist weitgehend unabhängig vom Ort der Tumorbildung.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen Mühlbock und Bockelmann, wenn sie schreiben, daß bis zum 40. Lebensjahr kein Unterschied im Cholesteringehalt des Serums zwischen Karzinomträgern und Gesunden bestehe. Einen vom Sitz des Tumors unabhängigen Cholesterinspiegel finden auch Mattig und Buchwald bei über 100 Karzinomfällen. Der von ihnen beschriebenen Serumhypercholesterinämie können wir ebenso, wie der von Guthmann und Voss festgestellten Serumhypocholesterinämie nur mit Einschränkung zustimmen. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stehen die Beobachtungen von Kreuz-Wendedich und Den Hoed. Sie berichten über eine Hypercholesterinämie bei Tumoren des Magen-Darmtraktes, die sie bei Geschwülsten außerhalb des Intestinums nicht gesetzmäßig finden. Ferner die Ergebnisse von Marino und Trepani. Ihre Ansicht, daß maligne Tumoren im Gegensatz zu benignen Tumoren deutlich erhöhte Serumcholesterinwerte aufweisen, ist in dieser allgemeinen Fassung nicht aufrecht zu halten.

Beeinflussung des Cholesterinspiegels durch Röntgen-, Radiumstrahlen und Kurzwellen.

Die Veränderungen im Cholesterinhaushalt als Folge einer Röntgenbestrahlung sind wiederholt untersucht worden. So finden Hubert-Roffo-Correa-Conrich und Scheller nach Röntgenbestrahlung einen Cholesterinsturz im Blutserum. Während Levi-Dorn-Burgheim und V. Barbarcy ein Ansteigen des Serumcholesterins als typisch ansehen. Jakobs und Montogima berichten über eine Verminderung des Plasmacholesterins nach Bestrahlung von Kachektischen und durch Operation geheilten Patienten, über Erhöhung bei Krebsträgern mit gutem Allgemeinzustand. Querner beobachtet eine Hypocholesterinämie nur als Begleiterscheinung des sogenannten Röntgenkaters.

Nach unseren Untersuchungen besteht zunächst ein prinzipieller Unterschied zwischen peripherer (vorwiegend die Extremitäten betreffend) und zentraler Strahleneinwirkung (den Körperstamm betreffend). Ein Unterschied zwischen Röntgen- und Radiumstrahlen ließ sich dagegen nicht nachweisen. Bei den intravital durchgeführten Bestrahlungen krebskranker Patienten ergab sich bei Bestrahlung des Brust- und Bauchraumes ein vorübergehender Anstieg des Serumcholesterins um 10—15%, der spätestens nach 24 Std wieder ausgeglichen war. Umgekehrt erfolgt ein Sturz der Cholesterinwerte, wenn nur die Körperperipherie, d. h. wenn mit Sicherheit keine Depotorgane für Cholesterin mitbestrahlt wurden. Im Gegensatz dazu führte die Kurzwellendurchflutung zu einer reversiblen Verminderung des Serumcholesterins von 15—20%. Besonders eindeutig zeigten die Fälle, die sowohl röntgenbestrahlt als auch mit Kurzwellen durchflutet wurden, diese verschiedene Reaktion auf die Bestrahlung. Worauf dieses unterschiedliche Verhalten im einzelnen zurückzuführen ist, kann nicht gesagt werden. Offenbar ist einer der Gründe die grundverschiedene Wirkungsweise der Kurzwellen selbst, die im Gegensatz zu den Röntgenstrahlen den Stoffaustausch Blut-Gewebe fördern (Schliephake-Pflomm).

Ähnlich ist das Ergebnis der postmortal durchgeführten Beobachtungen an Tumorkranken, die längere Zeit mit Röntgen-Radium-Strahlen behandelt wurden. Zunächst fiel auch hier die Abhängigkeit

des Serumcholesterins vom Ort der Bestrahlung auf. Weiterhin der Unterschied zu den Tumorträgern, die entweder überhaupt nicht behandelt oder operiert wurden, und letzten Endes die gegensätzliche Auswirkung der Bestrahlung auf Herz- und Pfortaderblut. Die intravital so augenfällige Steigerung des Blutcholesterins nach einer Bestrahlung ist bei den p.m. untersuchten Fällen nur im Pfortaderblut nachweisbar. Sie beträgt bei Bestrahlung der Stammregion im Mittel 20—25%. Die Durchschnittswerte des Herzblutes sind bei zentraler Strahleneinwirkung eher etwas vermindert (5—10% gegenüber den unbehandelten Tumorträgern). Die Esterwerte verhalten sich in beiden Bluten quantitativ und qualitativ etwa gleich. Ihr Anstieg beträgt rund 20—25%. Betreffen die Strahlen mit Sicherheit keine Depotorgane, so verwischen sich die Unterschiede zwischen behandelten und nicht behandelten Tumorträgern bis zu gleichen Werten für beide Gruppen. Zum Abschluß sei noch erwähnt, daß die Bestrahlungsfolgen unabhängig von der betreffenden Geschwulstart in jedem Fall — wenn auch nicht immer in gleicher Intensität — zu beobachten waren. Damit sind auch die Veränderungen des Serumcholesterins, die im Gefolge einer Röntgen-Radium-Bestrahlung bzw. Kurzwellendurchflutung auftreten, den nicht tumorbedingten Störfaktoren zuzurechnen und müssen in jedem Fall bei der Betrachtung des „Serumcholesterins bei malignen Geschwülsten" gebührend berücksichtigt werden.

Zusammenfassung.

In einer nicht ausgelesenen Serie von 157 Sektionsfällen wurde der Cholesteringehalt des Plasmas im Herz- und Pfortaderblut und bei 100 Fällen auch der Galleflüssigkeit nach Schmidt-Thomé bestimmt. Außerdem wurden 27 Fälle von malignen Tumoren verschiedener Lokalisation berücksichtigt, bei denen die Bestimmungen intravital vor und nach einer Bestrahlung durchgeführt werden konnten.

1. Aus postmortalen Cholesterinbestimmungen erhaltene Werte sind durchaus mit den in der Klinik bekannten Durchschnittswerten vergleichbar. Die Esterwerte des Herzblutes steigen innerhalb der ersten 10 Std nach dem Tode bei gleichbleibendem Gesamtcholesterin von 0,9 auf 1,40 an. Ihr Anstieg wird als Estersynthese angesprochen und auf das ausschließlich im Blutserum nachgewiesene, esterbildende Ferment zurückgeführt. Stärkere Grade von p.m. Hämolyse führen zur Steigerung des Plasmacholesterins.

2. Es werden die Faktoren besprochen, welche das Serumcholesterin bei malignen Tumoren störend beeinflussen können. Besonders zu berücksichtigen sind neben physiologischen Einflüssen, wie Alter, Ernährungszustand, die Begleitkrankheit, der Grad der bestehenden Arteriosklerose, der Funktionszustand der Leber und Bestrahlungsfolgen.

3. Mit Fortschreiten der anatomisch-histologisch feststellbaren Leberparenchymschädigung sinken die Werte für Gesamt- und Estercholesterin in Herz- und Pfortaderblut gleichmäßig stark ab. Eine esterifizierende Funktion der Leber erscheint demnach unwahrscheinlich.

4. Maligne Geschwülste zeigen keine einheitlichen Serumcholesterinwerte. Kleinzellige, rein zellige, alveoläre Karzinome bzw. Meristome und mesenchymale Tumoren reduzieren den Serumcholesteringehalt, während die Adeno-Plattenepithel- und skirrhösen Karzinome keinen einwandfreien Einfluß auf das Serumcholesterin nehmen. Für die Hypocholesterinämie ist ausschließlich die Geschwulst selbst, nicht aber der Ort der Tumorbildung verantwortlich. Stärkeren Anteil an der Reduktion nehmen die Cholesterinester. Die Höhe des Serumcholesterinspiegels wird darüber hinaus von der Metastasenbildung überhaupt, von der Tumorkachexie und den Tumornekrosen mitbestimmt.

5. Der Serumcholesterinspiegel wird bei Röntgen-Radium-Bestrahlung und Kurzwellendurchflutung gegensätzlich beeinflußt. An den postmortal untersuchten Fällen kommt ein deutlicher Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Tumorkranken und eine gegensätzliche Wirkung der Röntgen-Radium-Bestrahlung auf das Herz- und Pfortadercholesterin zum Ausdruck.

Literatur.

Autenrieth-Funk: Münch. med. Wschr. **1913**. — Beumer: Z. Kinderheilk. **35** (1923). — Dtsch. med. Wschr. **51** (1925). — Beumer-Bürger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **71** (1913); **13** (1913); **61** (1928). — Bürger-Plöttner: Klin. Wschr. **20** (1941). — Bürger: Klin. Wschr. **1935**. — Zieglers Beitr. **69**. — Münch. med. Wschr. **1922**. — Bloor: J. of biol. Chem. **86** (1930). — Burgheim-Joel: Klin. Wschr. **1931**. — Burgheim: Klin. Wschr. **1928**. — Strahlenther. 1928. — Bierich-Detzel-Lang: Hoppe-Seyler **158**, 216, 217, 201. — Bauer: Krebsproblem **1949**. — Cytronberg: Biochem. Z. **45**. — Euler-Skarzynski: Biochemie d. Tumoren. — Guthmann: Klin. Wschr. **1930**. — Arch. Gynäk. **140** (1930). — Huecк: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **74**. — Zieglers Beitr. **54**. — Wacker-Huecк: Biochem. Z. **100** (1919). — Arch. exper. Bakter. **74**. — Keeser: Klin. Wschr. **1947**, 11/12. — Klein: Hoppe-Seyler **254**, 259, 268. — Lang: Z. f. Krebsforschg. **49** (1940). — Leupold: Zieglers Beitr. **69**. — Zbl. Path. **33**. — Levi-Dorn-Burgheim: Strahlenther. **22** (1922). — Morawitz: Hofmeisters Beitr. 8 (1906). — Mühlbock-Bockelmann: Klin. Wschr. **1937**, 845. — Mühlbock-Kaufmann: Dtsch. med. Wschr. **38**, 658. — Mjassnikow: Z. klin. Med. **103**, 105 (1926). — Rondoni: Z. Krebsforschg. **1938**. — Rosenthal: Dtsch. med. Wschr. **1919**, 21. — Rona-Mislowitzer-Seidenberg: Biochem. Z. **140** (1923). — Shope: J. of biol. Chem. **80**. — Sperry: J. of biol. Chem. **111** (1935); **117** (1936). — Schettler: Ärztl. Forschg. **1947**, 12/13. — Schliephake: Kurzwellenther. — Thannhauser: Dtsch. Arch. klin. Med. **141** (1923). — Thannhauser-Schaber: Klin. Wschr. **252** (1926).

Dr. F. Hartl, München 15, Patholog. Institut der Universität, Thalkirchnerstr. 36.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 249—254 (1951).

Aus der Medizinischen Klinik Kiel.

Die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol auf den Sauerstoffverbrauch von Gewebsschnitten und Gewebsbrei.

Von

JENS ALSLEV und MANFRED KIESE.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. März 1951.)

In roten Zellen bewirken Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol eine starke Steigerung der Sauerstoffaufnahme[1,2]. Diese wird durch die gekoppelte Oxydation von Phenylhydroxylamin und Hämoglobin sowie die enzymatische Reduktion des durch diese Reaktion gebildeten Nitrosobenzols zu Phenylhydroxylamin bedingt. Geschwindigkeitsbestimmend ist in diesem Kreisprozeß die enzymatische Reduktion des Nitrosobenzols[3]. Da die Zellen anderer Gewebe wirksamere reduzierende Fermentsysteme enthalten als die roten Zellen, haben wir untersucht, ob in Gewebsschnitten oder -brei durch Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol ebenfalls eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs bewirkt wird.

Nur am Zwerchfell der Ratte beobachteten wir nach der Einwirkung hoher Konzentrationen von Phenylhydroxylamin (10^{-3} Mol $\cdot$ 1^{-1}) eine geringe, kurzdauernde Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Diese war verbunden mit einer starken aeroben Glykolyse. Kurze Zeit nach dieser Reaktion hörte die SauerstoDaufnahme und Bildung von Kohlendioxyd ganz auf. Vielleicht ist an der Steigerung des Stoffwechsels der Kreisprozeß Phenylhydroxylamin-Nitrosobenzol beteiligt. Die aerobe Glykolyse und der schnell eintretende Tod der Zellen zeigen jedoch, daß die Phenylhydroxylaminwirkung eine sehr starke Schädigung der Zellen verursachte. Es kann sich also um eine unspezifische „Schädigungsreaktion" des Gewebes handeln[4].

Schnitte der Nierenrinde von Ratten waren empfindlicher für die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol. Eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme oder Säurebildung wurde nicht beobachtet. In einer Konzentration von 10^{-5} Mol $\cdot$ 1^{-1} waren Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin unwirksam. Bereits Konzentrationen von $2 \cdot 10^{-4}$ Mol $\cdot$ 1^{-1} hemmten ohne vorhergehende Steigerung die Sauerstoffaufnahme und Säurebildung der Schnitte, und wenig höhere Konzentrationen töteten sie schnell ab.

Zellen anderer Gewebe sind für die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol empfindlicher als die roten Zellen. Nach Injektion großer Dosen von Nitrosobenzol, die noch nicht tödlich wirken, werden im Blute Konzentrationen erreicht, die andere Gewebe bereits stark schädigen. Durch die Bindung des Nitrosobenzols an das Hämoglobin wird im Organismus eine hohe Spezifität der Wirkung auf die roten Zellen bedingt.

Versuche.

A. Methoden.

Zu den Untersuchungen wurden die Organe weißer Ratten verwandt. Die Tiere wurden 24 Std vor dem Versuch nüchtern gehalten, dann durch Nackenschlag getötet und die erforderlichen Gewebe sofort verarbeitet. Von der *Nierenrinde* wurden Rasiermesserschnitte hergestellt, deren Dicke unterhalb der Grenzschnittdicke lag. Das *Rattenzwerchfell* wurde nach Entfernung des Centrum tendineum ohne weitere Präparation verwandt.

Der Sauerstoffverbrauch und die CO_2-Bildung beider Gewebe wurde manometrisch nach der Gefäßpaarmethode von Warburg[5] in Karbonat-Ringer-Lösung bei 37° unter einem Gasgemisch von 95% O_2 und 5% CO_2 gemessen.

Zur Herstellung des *Leberbreies* wurde die Leber in 7 Teilen einer Phosphatlösung durch schnellrotierende Messer (15000 Umdrehungen je min) homogenisiert[6]. Während aller Arbeitsgänge wurde das Gewebe durch Eis gekühlt. Der Sauerstoffverbrauch des Homogenisates wurde manometrisch nach der direkten Methode Warburgs bei Absorption der gebildeten Kohlensäure durch Natronlauge gemessen.

Als Suspensionsflüssigkeit für die Gewebe wurden folgende Lösungen verwandt: a) Karbonat-Ringer-Lösung: Lösung I: 8,3 g NaCl, 0,42 g KCl, 0,25 g $CaCl_2$, 0,35 g $MgSO_4$, 0,19 g KH_2PO_4 in 1 l. Lösung II: 13 g $NaHCO_3$ im Liter. Gemischt wurden 100 Teile von Lösung I mit 20 Teilen von Lösung II.

b) Phosphatlösung[8]: 4,45 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O + 3{,}4$ g KH_2PO_4 in 500 ml.

Bei beiden Lösungen wurde Glukose in einer Konzentration von 0,2 g auf 100 ml hinzugesetzt.

Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol wurden nach Bamberger und Wohl[8] hergestellt.

Phenylhydroxylamin wurde in Ringer-Lösung gelöst, die vorher durch Einleiten von CO_2 vom Sauerstoff befreit worden war. Nitrosobenzol war in der erforderlichen Konzentration in Ringer-Lösung nicht löslich, die Lösung erfolgte deshalb in einer Mischung von 1 Teil Azeton und 5 Teilen Ringer-Lösung. Die Konzentrationen wurden jeweils so gewählt, daß nach Zugabe der Phenylhydroxylamin- oder Nitrosobenzollösung zum Inhalt des Hauptraumes die gewünschte Endkonzentration entstand.

Zur Trockengewichtbestimmung der Nierenrindenschnitte und des Zwerchfells wurden die gewaschenen Gewebsschnitte bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zur Berechnung der Sauerstoffaufnahme bzw. Freisetzung von Kohlendioxyd der Gewebspräparate nach Zugabe der Lösungen von Phenylhydroxylamin war bei höheren Konzentrationen eine Korrektur für den zur einmaligen Oxydation des Phenylhydroxylamins erforderlichen Sauerstoff erforderlich. Die Verdünnung des Azetons beim Einkippen der Nitrosobenzollösungen aus dem Seitengefäß in den

Hauptraum der WARBURG-Gefäße vermindert durch Abnahme des Dampfdrucks des Azetons den Druck im Gefäß. Beide Korrekturen wurden in Kontrollversuchen bestimmt.

B. Ergebnisse.

1. Schnitte der Rattennierenrinde.

An den Schnitten der Rinde von Rattennieren wurden Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol in Konzentrationen von 10^{-5} bis $2 \cdot 10^{-3}$ Mol $\cdot$ l^{-1} geprüft, die den Sauerstoffverbrauch roter Zellen erhöhten[2]. In der Konzentration von 10^{-5} Mol $\cdot$ l^{-1} waren beide Gifte unwirksam. Der Stoffwechsel wurde nach der Zugabe 2 Std lang gemessen und eine durch die Gifte bedingte Änderung nicht beobachtet. Höhere Konzentrationen hemmten die Sauerstoffaufnahme, und Konzentrationen über $5 \cdot 10^{-4}$ Mol $\cdot$ l^{-1} töteten das Gewebe, je nach der Konzentration, in ¼—1½ Std ab. In Tab. 1 sind die Ergebnisse von 2 Versuchsreihen zusammengestellt. In den höheren Konzentrationen war Nitrosobenzol etwas stärker wirksam als Phenylhydroxylamin. Wahrscheinlich kam das Phenylhydroxylamin nicht voll zur Wirkung, weil es nach dem Einleiten des Sauerstoffs in das Reaktionsgefäß schon zum Teil oxydiert und durch Bildung von Azoxybenzol unwirksam wurde.

Die Freisetzung von Kohlendioxyd wurde durch die Gifte in gleichem Maße beeinflußt wie die Sauerstoffaufnahme.

Die Sauerstoffaufnahme der Schnitte, auf die Phenylhydroxylamin oder Nitrosobenzol einwirkte, ist in der Tab. 1 als Bruchteil der Sauerstoffaufnahme der Kontrollschnitte angegeben, die sich innerhalb der angewendeten Zeiten nur sehr wenig änderte.

Tabelle 1.

Änderungen der Sauerstoffaufnahme von Nierenrindenschnitten der Ratte nach Zusatz von Phenylhydroxylamin oder Nitrosobenzol.

Konzentration Mol $\cdot$ $l^{-1} \cdot 10^5$	Zeit nach Giftzusatz min	Sauerstoffaufnahme QO_2 Schnitte mit Gift / QO_2 Schnitte ohne Gift
Phenylhydroxylamin		
1	120	1
10	105	0,5
20	105	0,5
50	120	0,2
100	90	0
200	45	0
Nitrosobenzol		
1	120	1
20	105	0,5
30	45	0
50	30	0

2. Rattenzwerchfell.

Aus mehreren Versuchsreihen mit Konzentrationen von 10^{-5} bis $2 \cdot 10^{-3}$ Mol Phenylhydroxylamin oder Nitrosobenzol ergab sich eine ähnliche Wirkungsstärke dieser Gifte auf das Zwerchfell der Ratte, wie sie in Tab. 1 für die Wirkung auf Schnitte der Nierenrinde beschrieben ist. Während bei diesen eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme nicht beobachtet wurde, bewirkten Phenylhydroxylamin sowie Nitrosobenzol in der Konzentration von $1—5 \cdot 10^{-3}$ Mol $\cdot l^{-1}$ eine kurzdauernde Steigerung der Sauerstoffaufnahme, der ein schneller Abfall bis zum völligen

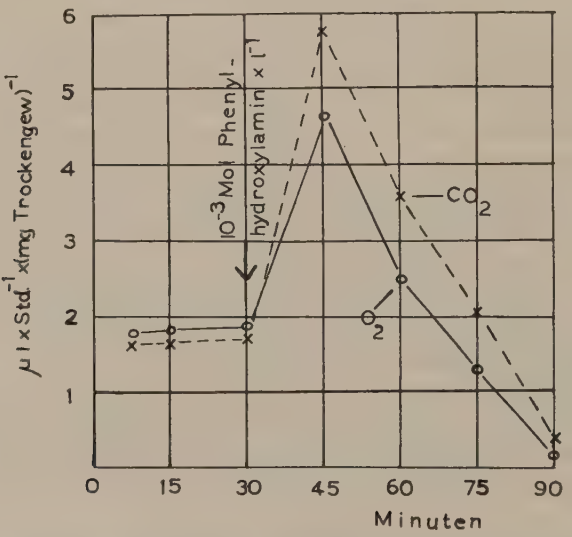


Abb. 1. Änderung der Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydfreisetzung durch Rattenzwerchfell in Karbonat-Ringer-Lösung nach Zusatz von 10^{-3} Mol Phenylhydroxylamin $\cdot l^{-1}$.

Stillstand der Sauerstoffaufnahme folgte (Abb. 1). Die Steigerung der Sauerstoffaufnahme war von einer noch stärkeren Freisetzung von Kohlendioxyd begleitet. Auch diese sank etwa in der gleichen Zeit wie die Sauerstoffaufnahme auf Null ab.

3. Rattenleberbrei.

Im Gegensatz zu Gewebsschnitten ist die Sauerstoffaufnahme des Leberbreis unter unseren Versuchsbedingungen nicht über längere Zeit von gleicher Geschwindigkeit. Vielmehr nimmt die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme frischer Homogenisate mit der Zeit schnell ab und erreicht erst nach etwa 1 Std einen weniger veränderlichen Wert. Gleiche Mengen des gleichen Homogenisats hatten aber in verschiedenen Gefäßen eine so ähnliche Sauerstoffaufnahme, daß aus dem Vergleich mit

Kontrollansätzen auch sehr geringe Änderungen der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme erfaßt werden konnten. Allerdings sind quantitative Angaben über die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol wegen der Änderung der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme mit der Zeit nur schwierig zu machen. In der Abb. 2 ist ein Versuchsprotokoll über die Wirkung von Nitrosobenzol wiedergegeben. Danach waren $5 \cdot 10^{-6}$ Mol Nitrosobenzol $\cdot 1^{-1}$ unwirksam, während $5 \cdot 10^{-5}$ Mol $\cdot 1^{-1}$ schon eine geringe Hemmung der Sauerstoffaufnahme bewirkten und $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ Mol $\cdot 1^{-1}$ nach 20 min die Sauerstoffaufnahme fast voll-

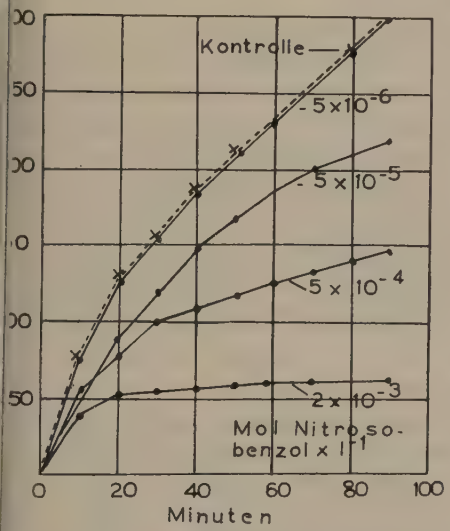


Abb. 2.

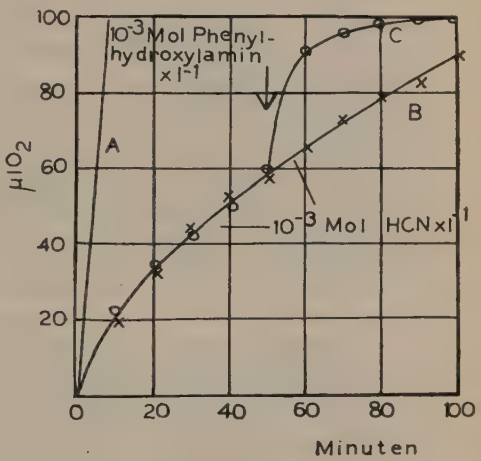


Abb. 3.

Abb. 2. Hemmung der Sauerstoffaufnahme von Leberbrei durch verschiedene Konzentrationen von Nitrosobenzol. 3 ml eines Honogenisats von 1 Teil Leber in 7 Teilen Phosphatlösung. Temperatur 37C°.

Abb. 3. Wirkung von Phenylhydroxylamin auf die „Restatmung" von Leberbrei. Kurve A: Sauerstoffaufnahme von Leberbrei ohne Zusatz von Blausäure und Phenylhydroxylamin. Kurve B: Leberbrei mit 10^{-3} Mol Blausäure $\cdot 1^{-1}$. Kurve C: Leberbrei mit 10^{-3} Mol Blausäure $\cdot 1^{-1}$; beim Pfeil Zusatz von 10^{-3} Mol Phenylhydroxylamin $\cdot 1^{-1}$.

ständig beseitigt hatten. Phenylhydroxylamin hatte die gleiche Wirkungsstärke wie Nitrosobenzol. Nach diesen Daten war also die Wirkung der beiden Gifte auf den Leberbrei gleichstark wie auf Nierenrinde und Zwerchfell.

An Leberbrei wurde auch der Einfluß von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol auf die nach Zusatz von Blausäure verbleibende „Restatmung" untersucht. Zur Hemmung der „Hauptatmung" wurde Blausäure in einer Konzentration von 10^{-3} Mol $\cdot 1^{-1}$ dem Brei zugesetzt und die Sauerstoffaufnahme nach der Gefäßpaarmethode gemessen. Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol waren bis zu Konzentrationen von 10^{-3} Mol $\cdot 1^{-1}$ ohne Wirkung. Konzentrationen von 1 bis $5 \cdot 10^{-3}$ Mol $\cdot 1^{-1}$ bewirkten eine geringe Steigerung der Sauerstoffaufnahme von

kurzer Dauer. Meist folgte dieser Steigerung eine Verminderung der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme unter den Wert der nicht mit Phenylhydroxylamin behandelten Kontrollansätze. Die gut reproduzierbare Wirkung von $2 \cdot 10^{-3}$ Mol Phenylhydroxylamin $\cdot$ l^{-1} ist in Abb. 3 dargestellt.

Frau Anneliese Alslev haben wir für Hilfe bei den Untersuchungen zu danken.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol auf den Stoffwechsel des Zwerchfells, Nierenrindenschnitts und Leberbrei von Ratten wurde durch manometrische Bestimmung der Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydfreisetzung gemessen. In keinem Falle bewirkten die Gifte eine anhaltende Steigerung der Sauerstoffaufnahme, wie sie an roten Zellen zu beobachten ist. Lediglich am Rattenzwerchfell bewirkten Konzentrationen $> 10^{-3}$ Mol $\cdot$ l^{-1} eine vorübergehende Steigerung der Sauerstoffaufnahme mit überschüssiger Kohlendioxydfreisetzung, der schnell der Gewebstod folgte. An den anderen Objekten wurden nur Hemmungen der Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydbildung beobachtet.

Literatur.

[1] Warburg, O., F. Kubowitz, u. W. Christian: Biochem. Z. **242**, 170 (1931). — [2] Kiese, M., u. H.-D. Waller: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 345 (1950). — [3] Dannenberg, H., u. M. Kiese: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 410 (1950). — [4] Brock, N., H. Druckrey, u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [5] Warburg, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926. — [6] Folley, S. J., and S. C. Watson: Biochemic. J. **42**, 204 (1948). — [7] Krebs, H. A., u. L. V. Eggleston: Biochemic. J. **32**, 913 (1938). — [8] Gattermann, L. u. H. Wieland: Die Praxis des organischen Chemikers. Berlin 1948.

M. Kiese, Marburg/Lahn, Pharmakolog. Institut der Universität, Pilgrimstein 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 255—264 (1951).

Aus den pharmakologischen Instituten der Universität Würzburg und der Humboldt-Universität zu Berlin sowie dem Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Synthetische Azulene II.

(Physiologische Wirkungen.)

Von

F. Jung, W. Schoetensack, E. Mahler und L. Burckhard.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. November 1950.)

Man kennt heute neben den natürlich vorkommenden Azulenen eine größere Reihe synthetischer Derivate, doch sind antiphlogistische Wirkungen nur beim Chamazulen (Kamille und Schafgarbe) mit Sicherheit nachgewiesen. Von den synthetischen Produkten haben Heubner und Mitarbeiter das unsubstituierte Grundazulen und ebenso ein synthetisches Muster des Vetivazulens unwirksam gefunden. Prüfungsergebnisse bei weiteren natürlich vorkommenden Produkten (etwa dem Laktarazulen und Laktaroviolin) sind nicht bekannt. Wir prüften nunmehr — auf Anregung H. Arnolds, welcher eine größere Reihe verschieden substituierter Produkte synthetisiert hatte mit Unterstützung der *Chemiewerk Homburg A.G.* Frankfurt/Main — einige di- und trisubstituierte Azulene, ferner 3 Azulenkarbonsäuren und 2 Azulenkarbinole mit Hilfe des von uns beschriebenen Verfahrens.

Entgegen unseren, im Hinblick auf die Heubnerschen Befunde sehr geringen Hoffnungen zeigten sich schon in einigen Vorversuchen Wirksamkeiten, die denen des Chamazulens gleich kamen bzw. diese sogar zu übertreffen schienen. Da ein Teil dieser synthetischen Azulene relativ leicht zugänglich ist, also in fast beliebigen Mengen zur Verfügung steht, konnten wir weitere Untersuchungen zur physiologischen Wirksamkeit dieser auf Grund ihres physikochemischen Verhaltens so interessanten Kohlenwasserstoffe in Angriff nehmen.

Unsere Befunde erlauben Rückschlüsse auf Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung, diese sollen jedoch nur kurz gestreift werden.

I. Antiphlogistische Wirksamkeit.

Vor Ausarbeitung unserer Prüfungsmethode wurde bereits eine Anzahl von Versuchen durchgeführt: Die Versuchsanordnung war praktisch dieselbe, die Protokollierung aber weniger systematisch, so daß sich die Befunde später nicht auf die Zahlen des statistischen Verfahrens

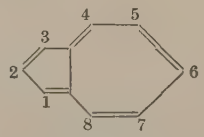
umrechnen ließen. Mangels Materials konnte nur ein Teil der Verbindungen ein zweites Mal geprüft werden, doch ist auf Grund der wiederholt geprüften Produkte ein Einschluß in die übrigen Befunde möglich.

Tab. 1 enthält die Ergebnisse dieser Vorversuche (vgl. auch Arnold, Jung u. a.!).

Tabelle 1.

Bezeichnung	Konstitution	Tierzahl	Urteil
A 1	1-Isopropylazulen	10	0
A 2	2-Isopropyl-x, x-dimethylazulen. . .	10	+++
A 3	1-Isopropyl-6-methylazulen.	10	+
A 4	6-Isopropyl-1,4-dimethylazulen . . .	10	++
A 5	Chamazulen	10	++
A 6	Vetivazulen	10	?
Wirkungsvergleich A 2 gegen A 5		20	A 2 ≫ A 5

Der Tabelle sei zugefügt, daß dem Chamazulen möglicherweise die Struktur eines 8-Isopropyl-1,5-dimethylazulens zukommt. Das Vetivazulen war ein synthetisches Präparat, seine Konstitution ist die eines 2-Isopropyl-4,8-dimethylazulens. Die Bezifferung der Substituenten am Azulenringsystem geschieht nach:



Der Befund, daß A 2 wirksamer ist als das natürliche Kamillenazulen (A 5), dürfte auf Grund der hohen Tierzahl gesichert sein. Unsicher war das Ergebnis bei A 3. Tab. 2 enthält die Ergebnisse an einer größeren Reihe weiterer Azulene.

Von den 4 wirksamen Azulenen der Tab. 2 sind A 4 und A 18 dem Chamazulen wahrscheinlich gleichwertig. Von praktischer Bedeutung mag sein, daß die Wirkung unserer A 18-Ultraschallemulsionen der Wirkung eines frisch nach Vorschrift DAB VI aus Fränkischer Kamille hergestellten Kamilleninfus gleichkommt, bzw. sie wahrscheinlich sogar übertrifft. Die Stellung von A 24 ist weniger sicher, da seine Wirksamkeit deutlich geringer ist als die des Chamazulens; immerhin dürfte das Produkt gegenüber den übrigen Derivaten bei der praktischen Anwendung keine wesentlichen Differenzen zeigen.

Versuchen wir die *wirksamen* Azulene in eine Reihe zu ordnen, so dürfte sich ein Abfallen der Wirkung mit A 2 → A 11 → A 18 = A_4 → A 24 ergeben. Doch ist die statistische Sicherung der Differenzen gering.

Tabelle 2.

Bezeichnung	Konstitution	Tierzahl	Wirksamkeit	Urteil
A 4	6-Isopropyl-1,4,-dimethyl-azulen	10	0,4 ± 0,05	++
A 6	2-Isopropyl-4,8,-dimethyl-azulen (Vetivazulen). . .	20	0,02 ± 0,03	0
A 10	2-Isopropyl-6-methylazulen.	20	0,12 ± 0,08	(+)
A 11 = A 5	Chamazulen	20	0,44 ± 0,11	++
A 12 = A 3	1-Isopropyl-6-methylazulen.	20	0,24 ± 0,17	
A 12	2. Versuch	10	0,20 ± 0,20	+
A 13	identisch mit A 3 und A 12 .	20	— 0,27 ± 0,21	
A 15	2-Isopropyl-5-methylazulen.	20	— 0,02 ± 0,1	—
A 18	1-Isopropyl-5-methylazulen (Azulon-Homburg)	20	0,40 ± 0,15	++
A 24	1-Isopropyl-5,6-dimethyl-azulen	39	0,19 ± 0,01	++
Wirkungsvergleich durch Behandlung *beider* Augen	A 11 — A 18	10	0,08 ± 0,17	A 11 = A 18
	A 18 — Kamill.-Inf.	20	0,13 ± 0,10	A 18 > Infus
	A 18 — A 24	20	0,02 ± 0,10	A 18 = A 24
	A 18 — $A18_1$ . . .	38	0,01 ± 0,10	identisch

Wirksam dürfte ferner A 12 sein, obwohl bei diesem Produkt uns nicht verständliche Bestimmungsschwierigkeiten auftraten. Das Muster A 13 gab nämlich einen ziemlich hohen negativen Wert. Da aber die anderen Versuche mit diesem Azulen jeweils eindeutig positive Werte ergaben (Versuch A 3 und $A\,12_1$ wie $A\,12_2$) und außerdem in *keinem* unserer Versuche so hohe Werte von σ^2 beobachtet wurden wie bei A 13, dürfte hier wohl irgendein Versuchsfehler vorliegen.

[Bei den Versuchen mit 20 Tieren bewegte sich σ^2 zwischen 0,15 und 0,5. Die Werte waren charakteristisch für die auswertenden Personen: so lagen sie bei einer Serie um 0,3 (L. B.), bei einer zweiten Serie um 0,2 (G. B.). Ein Wert über 0,55 wurde nur ein einziges Mal beobachtet, und zwar eben bei A 13 mit fast 0,9 — ein sicherer Hinweis auf Unstimmigkeiten im Versuch!]

Im Rahmen dieser Versuchsserie war uns als A 16 eine Lösung von Sudanblau in Paraffinöl unterschoben worden. Es ergab sich ein — statistisch gesicherter — erheblich *negativer* Wert (— 0,4).

Tab. 1 und 2 läßt bereits gewisse Substitutionsregeln ablesen: 1,5-Substitution ist günstiger als 1,6-Substitution. Die 1-Isopropylderivate sind wirksamer als die 2-Isopropylderivate. Interessanterweise ist Chamazulen wie das wirksame A 18 ebenfalls an 1,5 substituiert, wenn auch mit anderen Alkylen. Auch das wirksame A 4 weist die in A 3 wirksame 1,6-Besetzung auf, während dem unwirksamen A 6 diese oder eine andere wirksame Kombination fehlt.

Die Beständigkeit der einzelnen Produkte war sehr verschieden. Bei A 18 trat im Verlaufe des Versuches eine grüne Verfärbung der Emulsion auf, die durch eine besondere, chromatisch nachweisbare grüne Komponente bedingt war.

In der folgenden Tab. 3 sind weitere Ergebnisse bei einer Reihe von Azulenderivaten und Umwandlungsprodukten wiedergegeben.

Tabelle 3.

Bezeichnung	Konstitution	Tierzahl	Wirksamkeit	Urteil
A 30	Azulenkarbinol	15	0,29 ± 0,18	++
A 31	Azulenkarbinol	14	0,22 ± 0,16	+
A 20	1-Isopropylazulen-6-Karbonsäure	13	— 0,25 ± 0,15	—
A 25	1-Isopropyl-5-methylazulen-6-Karbonsäure	39	0,18 ± 0,01	++
A 26	1-Isopropyl-7-methyl-azulen-6-Karbonsäure	19	0,17 ± 0,04	+
A 22	Dehydrierungsvorstufe von A14	20	0,0 ± 0,10	0
A 14	1-Isopropyl-azulen-6-Karbonsäureäthylester	10	0,0 —	0
A 18/F 45	Oxydationsprodukt von A 18 .	10	— 0,23 ± 0,24	—
Wirkungsvergleiche durch Behandlung *beider* Augen	A 18—A 25	20	0,02 ± 0,05	A 18 = A 25
	A 18—A 26 (0,02%)	20	0,42 ± 0,03	A 18 > A 26
	A 18—A 26 (0,08%)	19	0,47 ± 0,02	A 18 > A 26

Die beiden Azulenkarbinole sind somit sicher wirksame Verbindungen. Die zunächst in 0,02%igen wäßrigen Lösungen angewandten Karbonsäuren sind etwas schwieriger zu beurteilen: Auf Grund zahlreicher Versuche kann die dem A 18 konstitutionell entsprechende Säure A 25 als

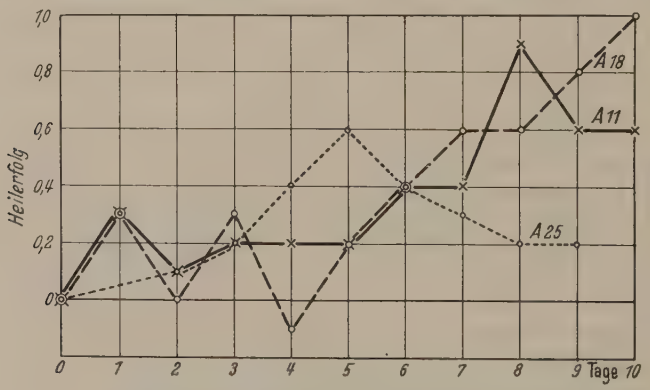


Abb. 1. Ablauf der Azulenwirkung: Ordinate = täglicher Heilerfolg.

sicher wirksam angesehen werden. Doch zeigt diese Wirkung einige Besonderheiten: Trägt man den Heilerfolg bis zu einem bestimmten Tag für A 18 oder A 11 graphisch auf, so erhält man eine ansteigende Linie; dagegen wurde in den Versuchen mit A 25 ein Maximum erreicht, von welchem an der Heilerfolg wieder abnahm (Abb. 1). A 25 besitzt daher vermutlich neben dem azulenspezifischen therapeutischen Effekt auf die Senfölentzündung gleichzeitig schädigende Wirkungen. Diese treten mit wachsender Behandlungsdauer zunehmend hervor. A 26 gab bei

direkter Austestung zwar einen positiven Effekt, doch war die Fehlergrenze relativ hoch. Bei den Wirkungsvergleichen war die Verbindung praktisch wirkungslos, da die Vergleichsubstanz A 18 volle Wirksamkeit zeigte. Vielleicht ist das etwas günstigere Ergebnis bei der verdünnteren Lösung nicht bedeutungslos, denn es würde gut zu der Annahme passen, daß bei A 26 die schon bei A 25 angedeuteten Schädigungseffekte mit der therapeutischen Wirkung stärker konkurrieren und diese im Verlauf des Versuches vollständig auskompensieren. Immerhin muß aber auch daran gedacht werden, daß A 26 — welches anders als A 25 keine sicheren konstitutionellen Beziehungen zu einem wirksamen Azulen besitzt — nur schädigende Eigenschaften besitzt. Bei dem Produkt A 20 ist dies der Fall. Es ist nicht uninteressant, daß solche schädigenden Wirkungen bei Veresterung (vgl. A 14) verschwinden.

II. Darmwirkungen.

Auf Grund von Untersuchungen Junkmanns und Wiechowskis schreibt man die spasmolytische und karminative Wirksamkeit der Kamille nicht den Azulenen des ätherischen Öls, sondern wasserlöslichen Glykosiden zu. Wir haben trotzdem — ausgehend von einer wiederholt behaupteten histaminolytischen Wirkung — einige Versuche zur Darmwirksamkeit durchgeführt.

1. In einer 1. Versuchsreihe wurde der isolierte und frei suspendierte Meerschweinchendarm in der zum Histaminnachweis üblichen Versuchsanordnung verwandt. Hierbei kann der zu prüfende Stoff gleichzeitig von der Serosa- wie von der Schleimhautseite auf das Präparat einwirken. Bei Kontrollversuchen mit Olivenölemulsionen wurden weder Peristaltik noch Tonus noch die Histaminempfindlichkeit modifiziert. Auf A 18 wurde keine einheitliche Reaktion beobachtet. Gelegentlich reagierten die Därme ohne Tonusanstieg lediglich mit einer Steigerung der Pendelbewegung, gelegentlich führte die Zugabe der Emulsion auch zu einer histaminähnlichen Kontraktion des Darms, meist trat aber unter gleichzeitiger Peristaltiksteigerung eine lang anhaltende Tonussteigerung auf, welche sich langsamer oder schneller entwickelte und auf Auswaschen nicht reversibel war.

Die Histaminreaktion des Meerschweinchendarms war durch A 18 nicht zu unterdrücken. Azulen besitzt demnach keine echte histaminolytische Wirkung. Der unter A 18 stehende Darm zeigte aber — auf Grund seines veränderten Ausgangstonus oder seiner veränderten Ausgangsperistaltik — eine modifizierte Histaminwirkung. So kann am bereits kontrahierten Darm Histamin keine weitere Zusammenziehung mehr herbeiführen. Wird dagegen A 18 und Histamin gleichzeitig gegeben, so entwickelt sich eine normale Histaminreaktion.

A 11 war weniger darmwirksam als A 18. Auf Kamilleninfus wurde eine geringfügige Tonusvermehrung, Peristaltikverminderung und Herabsetzung der Histaminkontraktur festgestellt.

2. In einer 2. Versuchsreihe wurde an isolierten Darmstücken nach der Trendelenburgschen Methode der Darminnendruck bestimmt, welcher eben Peristaltik auszulösen vermag. Die Versuchsanordnung gestattete eine wahlweise Darmfüllung mit den zu prüfenden Lösungen. Diese wurden *stets* vom Lumen her appliziert.

Kamilleninfus bzw. ein handelsüblicher Kamillenextrakt führte in Verdünnungen bis $^1/_{30}$ zu Peristaltikhemmung und Tonussteigerung.

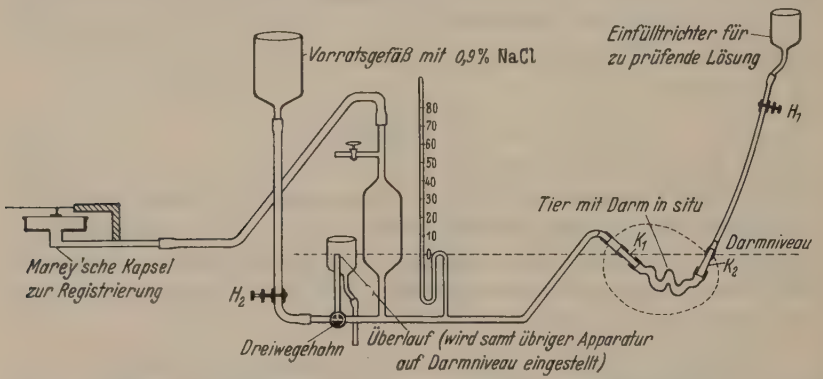


Abb. 2. *Darmapparatur.* Nach Einbinden der beiden Kanülen K_1 (weitlumig) und K_2 (englumig) in den Darm wird aus dem Einfülltrichter körperwarme NaCl bis zur völligen Reinigung des Darmes durchgespült. Der Überlauf steht dabei offen. Nach Verschluß des Quetschhahns H_1 stellt sich der Druck im Darm bei richtig eingestelltem Überlauf auf 0 ein. Nach 1—2 Std Ruhe wird die Apparatur unter Verschluß des Überlaufs bei leicht geöffnetem Quetschhahn H_2 mit dem Vorratsgefäß verbunden, es läuft dann NaCl-Lösung zu, bis das Manometer den gewünschten Innendruck zeigt. Es wird etwa 3 min gewartet und der Überlauf freigegeben, wodurch sich der Darm wieder entspannt. Nach 10 min Pause wird der Versuch wiederholt und ein neues Druckniveau aufgesucht.

Nach Wiederausspülen des Darms konnte die alte Ansprechbarkeit nicht wieder erreicht werden. Folgende Azulenderivate wurden geprüft und praktisch wirkungslos gefunden: A 15, A 24, A 25, A 30.

3. Prüfung am Darm in situ: Die zur Prüfung der Azulene am Meerschweinchendarm verwandte Vorrichtung in situ ist in der einfachen Skizze Abb. 2 wiedergegeben. Sie ist durch den Dreiweghahn bequem zu bedienen. Zwischen die einzelnen Versuchsserien wurden Ruhepausen von 30—60 min eingeschaltet.

Eine größere Reihe synthetischer Azulene wurde wie in den anderen Versuchen wirkungslos gefunden. Bei A 18 wurde dagegen in 10 von 11 Versuchen wiederum eine eindeutige Peristaltikvermehrung festgestellt. Die Darmbewegungen setzten bei einem 5—10 mm geringeren Darminnendruck ein, als bei Füllung mit Kontrollösungen. In einem Fall betrug der Druckunterschied sogar 30 mm H_2O. Die durch A 18 aus-

gelöste Peristaltiksteigerung war sehr nachhaltig, zweimaliges Durchspülen mit körperwarmer NaCl-Lösung und Zugabe eines Kamilleninfuses vermochten sie nicht zu beseitigen.

Kamilleninfus wirkte im Sinne einer Peristaltikhemmung. Doch war diese Hemmung nach Spülen des Darms mit physiologischer NaCl-Lösung innerhalb 1 Std reversibel.

A 18 besitzt somit eine — nicht von der Serosa sondern von der Schleimhaut auslösbare deutliche Reizwirkung auf die Peristaltik. Mangels Materials konnten wir entsprechende Versuche mit Chamazulen = A 11 nicht durchführen. Trotzdem läßt sich die Frage erneut aufwerfen, ob nicht ein Teil der karminativen Kamillenwirkung auch auf das Azulen zurückzuführen ist. Seit Durchführung dieser Versuche hat allerdings das Problem durch die Neuwaldsche Entdeckung eines zweiten Wirkstoffes, der Kamille, des *Chamillins*, mit ausgesprochen spasmolytischer Wirksamkeit eine neue Wendung genommen.

III. Muskel- und Herzwirkungen.

1. Am quergestreiften Froschmuskel führen weder A 18-Emulsionen noch Azulenkarbonsäurelösungen zu Kontrakturen.

2. Eine umfangreichere Versuchsreihe wurde am isolierten, elektrisch gereizten Froschventrikel durchgeführt. A 18-Emulsionen bleiben am Froschherzen wirkungslos, falls nicht außerordentlich hohe Konzentrationen angewandt werden. Ebenso wirkungslos waren auch Emulsionen von A 11.

Wurde A 18, in Tween gelöst, ins Herzinnere gegeben, so entwickelte sich die für Tween charakteristische negativ-inotrope Wirkung. Diese war jedoch in Kontrollversuchen mit reinen Tweenlösungen erheblich deutlicher, so daß anzunehmen ist, daß durch die A 18-Emulgierung ein Teil der schädigenden Wirkung des Tweens beseitigt wird.

Im Gegensatz zu den Kohlenwasserstoffen besitzen die Karbonsäuren eine sehr deutliche und charakteristische Herzwirkung. A 25 führt am ungeschädigten Froschherzen in Konzentrationen von etwa $0{,}2 \cdot 10^{-5}$ g/ml ab zu einer sehr schwachen positiv inotropen Wirkung, welche nach Auswaschen sofort reversibel ist. Auch in wesentlich höheren Konzentrationen bleibt diese positiv inotrope Wirkung als Anfangseffekt erhalten, so führen $1{,}2 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ g/ml zu einem etwa 20 Kontraktionen anhaltenden Anstieg der Hubhöhe. Diesem folgt aber eine zunehmende Abnahme der Herzleistung, welche auch nach Auswaschen der Karbonsäure nicht sofort reversibel ist, sondern noch längere Zeit zunimmt. Eine Erholung folgt relativ spät und ist im allgemeinen nicht vollständig. Wird die Karbonsäure nicht entfernt, so folgt schließlich diastolischer Stillstand (vgl. Abb. 3a).

Am geschädigten Herzen (Vorbehandlung mit hypotonen Lösungen oder konzentrierteren A 25-Lösungen) tritt die positiv inotrope Wirkung der geringen Karbonsäurekonzentrationen sehr deutlich hervor (Abb. 3b). Sie hält lange an, scheint in keine schädigende Wirkung überzugehen und ist nach Auswaschen reversibel. Als Grenzkonzentration für die Schädigung dürfte im Durchschnitt $10^{-4} \cdot$ g/ml gelten.

Versuche mit A 26 ergaben ein grundsätzlich ähnliches Bild. Schädigende Wirkungen traten bereits bei geringeren Konzentrationen als bei A 25 auf. Die fördernden Wirkungen an normalen Herzen waren wiederum sehr gering. — Bei diesen Versuchen war besonders die Oberflächenaktivität des A 26 aufgefallen, dessen Lösungen ziemlich stark schäumen.

Abb. 3a.

Abb. 3b.

Abb. 3. Einwirkung von Azulenkarbonsäuren auf den isolierten Froschventrikel. a) normales Herz. b) durch Vorbehandlung mit hypotoner Suspensionsflüssigkeit geschädigtes Herz.

Bei Anwendung der schädigenden Karbonsäurekonzentrationen ist die Farbtiefe der Lösungen so groß, daß im Versuch die Herzen deutlich verfärbt erscheinen.

Die Herzwirksamkeit entspricht übrigens, sowohl dem Charakter des Ablaufs wie auch den wirksamen Konzentrationen nach, den von Saponinen her bekannten Wirkungen. Bei diesen wird bekanntlich auch in sehr geringen Konzentrationen eine positiv inotrope Wirkung festgestellt, welche sich mit Steigerung der Konzentration in eine negativ inotrope verkehrt.

IV. Gefäßwirkungen.

Zu den Versuchen diente das Läwen-Trendelenburgsche Präparat der hinteren Froschextremität.

A 18-Emulsionen beeinflußten die Tropfenfrequenz am Präparat zunächst praktisch gar nicht. Wurde der Versuch jedoch mehrmals wiederholt, so stellte sich — namentlich bei Verwendung konzentrierter Emulsionen — langsam eine Durchflußminderung bis zum völligen Aufhören der Durchströmung ein. Es handelte sich dabei aber — wie sich leicht durch mikroskopische Betrachtung des

Präparats feststellen ließ — um keine Gefäßverengung, sondern um eine Verlegung der Gefäße durch größere Azulentröpfchen. Das Aufstauen und schließliche Entstehen eines blauen Embolus entlang den feineren Kapillaren war direkt beobachtbar und endete oft in recht plastischen blauen Darstellungen des Gefäßverlaufs. Der Azulenschwund aus der Durchströmungsflüssigkeit war aus der Farbe derselben leicht feststellbar. Die einlaufenden, deutlich blauen Emulsionen waren beim Austritt milchig weiß und enthielten nur noch die feineren Tröpfchen.

Der Lösungsvermittler Tween 60 (0,01%) allein bewirkt am Durchströmungspräparat eine Gefäßerweiterung, die nach Ausspülen langsam zurückgeht. Bei Verwendung von Tweenkonzentrationen um 0,1% folgt der Erweiterung eine Durchflußminderung mit Ödembildung. Wird A 18 in diesen Tweenlösungen gelöst, so läßt sich wieder ein gewisser Rückgang der schädigenden Tweenwirkung feststellen.

Sowohl bei Anwendung von A 18 als Ultraschallemulsion wie bei Gabe der Tweenlösung fällt das Auftreten spontaner Kloakentätigkeit unmittelbar nach Einströmen in das Präparat auf (vgl. Abb. 4). Diese

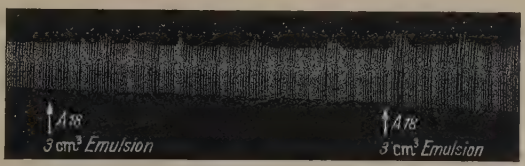


Abb. 4. A 18 am LÄWEN-TRENDELENBURGschen Präparat (Registrierung mit pneumatischem Ordinatenschreiber). Beachte Kloakenkontraktionen!

Kloakenreaktion bleibt mehrere Minuten erhalten und klingt dann nur langsam wieder ab.

Azulenkarbonsäuren führen innerhalb 1 min zu einer Gefäßverengung (z. B. in $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ g/ml), welche nur teilweise wieder abklingt. Bei wiederholter Gabe läßt sich derselbe Effekt reproduzieren, doch tritt dann Ödembildung hinzu. Bei höheren Konzentrationen tritt diese schon bei erstmaliger Applikation in den Vordergrund.

V. Weitere Beobachtungen zur Toxizität.

A 18, A 6, A 24 und die beiden Karbonsäuren A 24 und A 25 wurden außerdem in Form von Emulsionen oder Lösungen intravenös an Hunde gegeben. mg-Dosen zeigten erwartungsgemäß keine besonderen Wirkungen (5—20 mg). Dieselbe Dosis A 18 war auch am Rattenblutdruck wirkungslos. 2 Kaninchen, denen je 200 mg A 18 intravenös in reiner Form verabreicht wurde, zeigten außer einer geringen Unruhe während der Injektion praktisch keine toxischen Erscheinungen!

Eine größere Serie von Ratten erhielt Dosen zwischen 60 und 150 mg A 18 als Tweenlösung intraperitoneal. 8 von den 15 Tieren gingen innerhalb der ersten 12 Std zugrunde. Doch wurden mit dem Azulen sehr erhebliche Mengen Tween gegeben, so daß bei einzelnen Tieren peritonitische Erscheinungen auftraten. Alle behandelten Tiere wurden nach der Gabe apathisch und schliefen allmählich ein. Die Abnahme der

Körpertemperatur war besonders auffallend. Ein Teil der zugrundegehenden Tiere starb in Atemlähmung. Krämpfe usw. wurden niemals beobachtet. Auffälligerweise starben nur diejenigen Tiere, die innerhalb der ersten Stunden keine kräftige Ausscheidung gefärbten (blaugrünen) Urins zeigten.

Zusammenfassung.

1. Es wird für eine Reihe natürlicher und synthetischer Azulene die antiphlogistische Wirksamkeit an der Senfölentzündung des Meerschweinchenauges bestimmt. Dabei ließen sich mindestens zwei synthetische Produkte finden, welche in ihrer Wirksamkeit dem Azulen der Kamille entsprechen.

2. Unter den Azulenkarbonsäuren wie Azulenalkoholen finden sich ebenfalls antiphlogistisch wirksame Verbindungen.

3. Bei dem eingehender untersuchten 1-Isopropyl-5-methylazulen ließ sich eine ausgeprägte Darmwirksamkeit im Sinne einer Peristaltikförderung feststellen. Möglicherweise ist nicht nur die antiphlogistische Wirkung der Kamille, sondern auch der karminative Effekt dem Azulen zuzuschreiben.

4. Während die Azulene — als Kohlenwasserstoffe — pharmakologisch recht inaktive Körper sind, kommen den Azulenkarbonsäuren an Froschherzen und am Gefäßpräparat schon in geringen Konzentrationen eindeutige Wirkungen zu.

Literatur.

Arnold, Jung, Schoetensack und Bruno: Klin. Wschr. **27**, 511 (1949). — Junkmann und Wiechowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **144**, 1 (1929).

Prof. Dr. Fritz Jung, Berlin-Buch, Lindenberger Weg 76.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 265—282 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Über die Dehydrasen-Hemmung durch Schlangengifte und die Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips durch antitoxische Sera.

Von
A. Fleckenstein, G. Berg, J. Gayer u. S. Schönig.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Februar 1951.)

In vorausgegangenen Untersuchungen ist gefunden worden, daß Bienengift[14, 15, 19] und Schlangengifte[18, 19] die Dehydrierungs-Prozesse im Muskelbrei noch in außerordentlich hohen, teilweise millionenfachen Verdünnungen spezifisch hemmen können. Bienengift und Schlangengifte haben damit ähnliche Wirkungen auf den Zellstoffwechsel wie zahlreiche — schon früher geprüfte — halogenhaltige und halogenfreie Schmerz- und Entzündungsgifte[13, 14, 15, 16] von bekannter chemischer Konstitution. Die im folgenden wiedergegebenen Untersuchungen dienten

a) der vergleichenden Prüfung des dehydrasenhemmenden Prinzips bei einer Vielzahl verschiedener Schlangengifte;

b) dem Studium der Spezifität des dehydrasenhemmenden Prinzips und der Inaktivierbarkeit durch antitoxische Sera.

Als Wasserstoff-Akzeptor wurde wieder Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) nach Kuhn und Mitarb.[22, 23] in anaerober Versuchsanordnung verwendet und das rote Hydrierungsprodukt Triphenylformazan nach Ausschütteln in Methylalkohol photometrisch bestimmt.

Experimenteller Teil.

Methode.

Herkunft und Zustand der Gifte: Die zu prüfenden Schlangengifte lagen — ebenso wie das zu Vergleichsversuchen dienende Bienengift — in getrocknetem Zustand vor. Kobra-Gift wurde von Prof. Th. Wieland (Mainz), Bienengift (Charge 2/48) von Prof. W. Neumann (Würzburg) aus Beständen der Firma Mack & Co., Illertissen, zur Verfügung gestellt. Das Toxin der Sandviper wurde von den Behring-Werken bezogen. Sämtliche anderen Schlangengifte wurden von der Importfirma van Wankum & Gätjens, Hamburg 1, Heidenkampsweg 32, geliefert.

Die Gift-Stammlösungen (Konz. 1 : 1000 und 1 : 10000 in Phosphatpuffer) wurden für die Versuche nach Möglichkeit frisch angesetzt; Reste der Lösungen wurden im Eisschrank bei einer Temperatur von 2° C aufbewahrt und nie länger als 3 Tage verwendet.

Die *Zubereitung der Muskelpräparate* erfolgte in ähnlicher Weise, wie früher schon angegeben: Die frische Muskulatur der Hinterschenkel von jeweils 4—6 Eskulenten wurde 3mal durch eine kleine Fleischmaschine gedreht und daraus ein feiner Brei gewonnen; dieser wurde anschließend für die Versuche mit Milchsäure und Brenztraubensäure 2—3mal je 3 min in je 90 cm³ Natriumphosphat-Pufferlösung (1 Teil 0,2 mol prim. Natriumphosphat + 2 Teile 0,2 mol sek. Natriumphosphat) unter dauerndem Umrühren gewaschen. Für die Versuche mit Zitronensäure bzw. Bernsteinsäure wurde der Brei 5- bzw. 6mal ausgewaschen; zum Abpressen der Pufferlösung diente jeweils ein feinmaschiges Leinentuch; Sehnenreste und gröbere, nicht völlig zermahlene Muskelteilchen wurden entfernt.

Vergiftung der Muskelpräparate: Jeweils 1 g des kräftig ausgepreßten Muskelpräparats wurde in luftdicht verschließbare Röhrchen eingewogen, die berechnete Menge Gift-Stammlösung zugesetzt und mit Phosphatpuffer auf 2,5 cm³ aufgefüllt. Anschließend wurden die Röhrchen nach Umrühren verschlossen. In einem Teil der Versuche blieben die Röhrchen 12 Std bei einer Temperatur von 16 bis 18° C stehen, in anderen Versuchen wurde 3 Std lang bei 30° C inkubiert. In Anbetracht der langen Inkubationszeiten mußte eine stärkere Infektion der Muskelpräparate während der Zubereitung nach Möglichkeit vermieden werden; dies ließ sich durch ½stündiges Auskochen aller mit dem Muskelpräparat in Berührung kommender Geräte (Fleischmaschine, Glasbecher, Pinzetten, Leinentuch, Glasröhrchen, Scheren usw.) gut erreichen.

Weitere Zubereitung der Ansätze: Nach Ablauf der Inkubationszeit kamen in jedes Röhrchen weitere 0,5 cm³ Phosphatpuffer + 1 cm³ 0,2 mol Lösung der Substrate (Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure, Brenztraubensäure als Natriumsalz) in Phosphatpuffer + 1 cm³ Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung 1 : 200 in Phosphatpuffer. Dadurch wird die während der Inkubationszeit bestehende Gift-Konzentration auf die Hälfte erniedrigt: *Unsere Konzentrationsangaben der Gifte beziehen sich jeweils auf die Endkonzentrationen nach Zusatz von Substrat und TTC.* Die giftfreien Kontrollen waren in entsprechender Weise zubereitet. Weitere Kontrollen a) ohne und b) mit Giftzusatz enthielten an Stelle von 1 cm³ Substratlösung 1 cm³ reinen Phosphatpuffer, a) um die Eigenreduktion der Muskelpräparate infolge nicht ausgewaschener Reste an muskeleigenen Substraten zu prüfen und b), um die Hemmung dieser Eigenreduktion durch die verschiedenen Gifte festzustellen.

Anschließend wurden die Röhrchen mit Leuchtgas gefüllt und in ein Wasserbad von 30° C gebracht. Obwohl TTC unter Umständen auch bei Gegenwart von Sauerstoff als Wasserstoffakzeptor fungieren kann, sind nur bei einer solchen anaeroben Versuchsanordnung genauere Ergebnisse zu erzielen. Wenn in den giftfreien Kontrollen mit Substrat nach 1—3 Std eine stärkere Rotfärbung durch das — bei der Reduktion von TTC gebildete — Triphenylformazan eingetreten war, wurde der Versuch beendet: Das in den einzelnen Röhrchen gebildete Triphenylformazan wurde dann sofort mit Methylalkohol (45 cm³ je Röhrchen) 10 min lang ausgeschüttelt. Nach Absetzen der Muskelbestandteile (5 min) wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und noch 5 min lang bei 3500 Umdrehungen/min zentrifugiert. Die Bestimmung des in der klaren Flüssigkeit enthaltenen Triphenylformazans erfolgte mit dem Stufenphotometer bei einer Schichtdicke von 3 cm und Filter S 53. Die Eichkurve wurde unter Verwendung eines reinen Präparats von Triphenylformazan — gelöst in 1 Teil Phosphatpuffer + 9 Teilen Methylalkohol — nach Abzentrifugieren des Niederschlags festgelegt.

Die Aktivität der Muskelpräparate: Ein Maß für die Güte des zubereiteten Muskelpräparats ist das Verhältnis zwischen der in den giftfreien Kontrollen bei Substratzusatz gebildeten Triphenylformazanmenge (K_m) und der — schon ohne

Substratzusatz auf Grund der Eigenreduktion gebildeten — Triphenylformazanmenge (K_o). Das Ziel des Auswaschens besteht darin, durch weitgehende Entfernung muskeleigener Substrate K_o möglichst klein zu halten; bei der Milchsäure- und Brenztraubensäure-Dehydrase ist dieses Ziel jedoch häufig ohne stärkere Aktivitätsverluste des Muskelpräparats nicht zu erreichen. Dagegen ist die Dehydrierungsaktivität der Muskelpräparate für Zitronensäure gegenüber dem Auswaschen resistenter; ganz unempfindlich ist die Bernsteinsäure-Dehydrase. Durch stärkeres Auswaschen des Muskelpräparats wird aber unter Umständen auch die Giftempfindlichkeit erheblich gesteigert, so daß gut vergleichbare Resultate stets nur bei einer konstanten Technik des Auswaschens zu erhalten sind.

Berechnung der Hemmungen: Die prozentualen Dehydrierungshemmungen wurden für die einzelnen Substrate aus der Triphenylformazanbildung in den vergifteten Ansätzen im Vergleich zur Triphenylformazanbildung in den giftfreien Kontrollen mit Substrat (K_m) berechnet. Diese Berechnungsweise ist dann genau, wenn K_o klein ist, d. h. wenn die restlichen, muskeleigenen Substrate des Präparats nicht wesentlich zu der Triphenylformazanbildung beitragen. Die Prozentwerte für die Dehydrierungshemmung der zugesetzten Substrate werden dagegen um so ungenauer, je größer K_o im Verhältnis zu K_m wird. Günstig ist, daß nach verschiedenen Kontrollversuchen die Dehydrierung der nicht ausgewaschenen muskeleigenen Substrate durch Bienengift und Schlangengifte ähnlich stark gehemmt wird wie die Dehydrierung der zugesetzten Substrate. Dadurch wird der mögliche Berechnungsfehler bei relativ großem K_o wieder verringert. Das Verhältnis K_m/K_o (K_m und K_o angegeben in γ Triphenylformazan/1 g Muskelpräparat) ist in den folgenden Tabellen jeweils vermerkt; bei Verwendung mehrerer Präparate sind die Mittelwerte für K_m/K_o angegeben.

I. Hemmung der Froschmuskel-Dehydrasen durch Colubriden-Gifte.

Die Gifte der Colubriden (Naja naja, Naja nivea, Sepedon haemachates) sind bekanntlich in mancher Hinsicht von den Giften der Viperiden abzugrenzen: Bei den Colubridengiften treten die örtlichen Erscheinungen (Schmerz, Entzündung) hinter die resorptiv-toxischen Wirkungen zurück; als Träger der Giftwirkung wird dabei ein relativ hitzebeständiges (80° C) „Neurotoxin" von eiweißähnlicher Natur angesehen, das nach Untersuchungen von Micheel und Jung[26] bei Naja naja, Naja flava und Sepedon haemachates durch Zellophan dialysiert und ein Molgewicht von 2500—4000 haben dürfte. Ein von Wieland und Konz[30] gereinigtes „Neurotoxin" aus Kobra-Gift wies ein Molgewicht von 1500—2000 auf. Die Analyse der Substanz von Micheel und Jung[26] ergab 45,2% C, 7% H, 14,7% N, 5,5% S, 3% Aschegehalt. Bienengift hat nach Tetsch und Wolff[29] eine ähnliche Zusammensetzung und soll ein Molgewicht in der Größenordnung von 1000 besitzen (Fassbender[12]).

a) Kobra-Gift (Naja naja).

Auch Kobra-Toxin kann, wie bereits kurz berichtet, die Dehydrierung von Milchsäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure, Brenztraubensäure — ähnlich wie Bienengift — noch in höchsten Verdünnungen hemmen: Während z. B. normaler ausgewaschener Muskelbrei bei Zusatz von Zitronensäure (als Natriumsalz) aus dem farblosen Triphenyltetrazoliumchlorid das rotgefärbte Hydrierungsprodukt Triphenylformazan mit großer Aktivität bildet, tritt nach Vergiftung mit Kobra-Toxin in

Konz. 1 : 10000—1 : 100000 (an Winterfröschen) meist eine völlige Inaktivierung des Muskelbreis ein. Die Dehydrasenschädigung ist bei Zimmertemperatur 1 Std nach Giftzusatz noch ziemlich gering und erreicht erst nach länger dauernder Inkubation (12 Std bei 16—18° C bzw. 3 Std bei 30° C) das Maximum. Präparate aus Winterfröschen zeigten nach 3 Std Inkubation des Giftes in Konz. 1 : 800000 bei 30° C zum Teil Hemmungen der Zitronensäure-Dehydrierung von annähernd 80%! Präparate aus Sommerfröschen ließen etwas geringere Hemmungen erkennen, doch waren auch hier noch erhebliche Effekte nachweisbar (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. *Dehydrierungshemmungen im Froschmuskelbrei (Sommerfrösche) durch Kobra-Toxin in verschiedenen Konzentrationen* (Hemmung der Triphenylformazanbildung in Prozenten* nach 12 Std Inkubation des Giftes bei 16—18° C).

Substrate	1 : 10000	1 : 20000	1 : 40000	1 : 80000	1 : 100000	1 : 200000	1 : 400000	1 : 600000	1 : 800000	K_m/K_0 (Mittelwerte)
Zitronensäure .	100	100	100	78,0	74,3	51,4	45,0	19,6	14,3	225/49
	100	100	100	70,4	65,9	59,1	31,8	10,3	—	
Brenztraubensäure	90,6	90,6	87,5	71,9	50,0	31,2	—	—	—	134/31
				63,6	36,4	22,7				
Milchsäure . .	65,5	51,1	48,3	48,3	34,5	27,6	6,9	—	—	118/35
	63,2	42,1	42,1	50,0	37,5	26,8	3,2			
Bernsteinsäure.	90,5	72,4	72,4	48,1	44,4	14,8	—	—	—	119/34

* Jede Prozentzahl stellt den Mittelwert aus 2 Parallelversuchen dar.

Bei i.v. Injektion an weißen Ratten (150—200 g) wurden 0,25 mg/kg und 0,5 mg/kg des vorliegenden Kobra-Giftes überlebt (5 Tiere), während bei 1 mg/kg schon nach 10—20 min der Tod eintrat (4 Tiere).

b) Gift von Naja nivea.

Das zur Verfügung stehende Toxin von Naja nivea beeinträchtigte die Dehydrasen-Aktivität bedeutend weniger als das Gift von Naja naja: Die noch wirksame Grenzkonzentration für die Zitronensäure-Dehydrierung war 1 : 100000, für die Bernsteinsäure-Dehydrierung 1 : 20000.

Gleichwohl scheint die tödliche Dosis bei i.v. Injektion an der Ratte mit etwa 0,5 mg/kg noch etwas geringer zu sein als beim Toxin von Naja naja; 0,25 mg/kg wurden überlebt (2 Fälle).

c) Gift von Sepedon haemachates.

Sepedon haemachates, die in Süd- und Mittelafrika heimische „Spei-Schlange", wird als ebenso gefährlich wie Naja naja angesehen. Trifft ihr Sekret ins Auge, so soll heftige Bindehautentzündung und ein — meist vorübergehender — Verlust des Sehvermögens die Folge sein[1].

Das Sepedon-Toxin steht auch an dehydrasenhemmender Wirksamkeit im Froschmuskelbrei dem Kobra-Toxin nicht nach. Bis zu einer Verdünnung von 1 : 2 Millionen des Trockengiftes fanden wir Hemmung des Abbaues von Zitronensäure, Milchsäure, Brenztraubensäure und Bernsteinsäure. Die Reduktion des Dehydrierungsvermögens für Zitronensäure und Bernsteinsäure ist im einzelnen aus Tab. 3 zu ersehen.

An der weißen Ratte trat bei 1 mg/kg (2 Tiere) und 2 mg/kg (1 Tier) der Tod innerhalb 1 Std unter Krämpfen ein, ½ mg/kg war bei 1 von 2 Tieren nach 10 Std tödlich, $^1/_4$ mg/kg wurde überlebt.

II. Hemmung der Froschmuskel-Dehydrasen durch Viperiden-Gifte.

Viperidengifte, z. B. das Toxin von Crotalus adamanteus, Crotalus terrificus, Agkistrodon piscivorus, lassen nach Micheel und Bösser[25] ein höheres Molekulargewicht als das Neurotoxin der Colubriden erkennen. Abderhalden[6] gibt das durch Ultrazentrifugation bestimmte Molekulargewicht von „Crotoxin" mit 42000 an. Dialyse durch Cellophan tritt nicht ein; auch die Hitzebeständigkeit von Viperidengiften ist im allgemeinen geringer als beim Kobra-Gift. Unterschiede bestehen auch in der Resorbierbarkeit: Bei subkutaner Injektion (und beim Biß) kommen die vorwiegend „neurotoxischen", örtlich wenig reizenden Colubridengifte (Typ Naja naja) meist rascher zur Resorption als Viperidengifte, welche teilweise erhebliche örtliche Schmerz- und Entzündungseffekte besitzen. Auch bei rektaler Applikation an Meerschweinchen dringen offenbar nur Colubridengifte nach Beobachtungen von Bonsmann[9] in tödlicher Menge ein; einige haemorrhagisch-entzündliche Viperidengifte blieben dagegen resorptiv wirkungslos.

Bekanntlich sind die Viperiden in die beiden zoologischen Familien der Crotalinen (Grubenottern) und Viperinen (Vipern) aufzuteilen. An Viperngiften standen uns das Toxin von Ammodytes ammodytes (Sandviper) sowie von Bitis arietans und Causus rhombeatus zur Verfügung; aus der Familie der Crotalinen wurden Gifte der Gattung Agkistrodon, Crotalus und Bothrops auf dehydrasenhemmende Wirksamkeit geprüft.

a) Gift der Sandviper (Ammodytes ammodytes).

Schon unsere ersten Versuche (Fleckenstein und Berg, vgl.[19]) ergaben, daß auch die Sandviper, wohl die gefährlichste der europäischen Giftschlangen, in ihrem Sekret ein hochtoxisches, dehydrasenhemmendes Prinzip besitzt (vgl. Tab. 2). Eine andere Giftcharge der Behring-Werke war unter den gleichen Versuchsbedingungen stärker und hatte noch in Konz. 1 : 4 Millionen Effekte. Außerordentlich intensive Wirkungen stellten wir auch bei Versuchen mit einer 3. Giftprobe der Behring-Werke an Präparaten aus Winterfröschen fest (3 Std Inkubation bei 30° C): Hier betrug die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung im Mittel aus jeweils 4 Versuchen bei Konz. 1 : 400000 noch etwa 90% und bei Konz. 1 : 800000 68%. Die Wirkungen auf die Milchsäure-, Brenztraubensäure- und Bernsteinsäure-Dehydrierung sind aus Tab. 2 zu entnehmen.

Tabelle 2. *Dehydrierungs-Hemmungen im Froschmuskelbrei (Sommerfrösche) durch Sandvipern-Toxin in verschiedenen Konzentrationen* (Hemmung der Triphenylformazanbildung in Prozenten* nach 12 Std Inkubation des Giftes bei 16—18° C).

Substrate	1:10000	1:20000	1:40000	1:100000	1:20000	1:400000	1:600000	1:800000	1:1 Million	1:2 Millionen	K_m/K_o
Zitronen-	100	100	100	58,1	51,6	44,7	17,7	3	—	—	199/19
säure .	100	100	100	100	86,7	73,3	68,9	63,2	60,5	57,9	
Brenztrau-											
bensäure	93,0	93,9	93,9	57,6	39,4	42,9	21,4	—	—	—	165/40
Milchsäure	70,0	60,0	56,7	50,0	30,6	22,0	4,9	—	—	—	151/55
Bernsteins.	80,8	65,4	53,8	45,2	35,5	8,3	—	—	—	—	143/54

* Jede Prozentzahl stellt den Mittelwert aus 2 Parallelversuchen dar.

b) Gift von Causus rhombeatus.

Das Sekret von Causus rhombeatus, einer in Westafrika, Kongo und Transvaal vorkommenden Viper, macht ebenfalls Dehydrasen-Schädigungen (vgl. Tab. 3).

Von 11 weißen Ratten wurde die Dosis von 1—5 mg/kg i.v. überlebt, bei 8 mg/kg trat Exitus nach 6 Std ein (1 Tier).

c) Gift von Bitis arietans.

Die Puffotter (Bitis arietans) ist in Süd- und Äquatorialafrika heimisch. Ihr Gift soll zentral-lähmende, hämorrhagische, blutkoagulierende und proteolytische Wirkungen haben (Beaujean[8]).

Die Dehydrierungsprozesse im Muskelbrei werden durch Bitis-Toxin viel weniger als von den anderen untersuchten Schlangengiften gehemmt: Für die Umsetzung von Zitronensäure lag die noch wirksame Grenzkonzentration bei 1 : 10000—1 : 20000 (6 Std Inkubation bei 16 bis 18° C). Nach 12 Std Inkubation konnten in diesen Konzentrationen überhaupt keine Hemmungen festgestellt werden.

Auch bei der i.v. Injektion ergab sich ein von den anderen Schlangengiften völlig abweichendes Vergiftungsbild: Während wir sonst keine sehr auffälligen makroskopischen Organveränderungen bei tödlich vergifteten Ratten beobachten konnten, bluteten die Tiere schon wenige Minuten nach Verabreichung von 2 bis 3 mg/kg Bitisgift aus Maul und Nase. Bei 3 mg/kg trat im Laufe von 1 Std (5 Tiere) unter zunehmender Dyspnoe Exitus ein. Pleura, Lungen, Dünndarm, Epikard waren von petechialen Blutpunkten übersät. Auch in der Trachea befand sich Blut. Ebenso schienen die Augen (durch Blutaustritte in den Glaskörper.) dunkelrot gefärbt; 1 mg/kg wurde überlebt (5 Tiere).

d) Gift von Agkistrodon contortrix.

Agkistrodon contortrix („Copperhead", „Deaf Adder", „Pilot Snake") soll nur selten Todesfälle verursachen. Ihr Gift hemmte die

Dehydrasen-Aktivität noch in höchsten Verdünnungen beträchtlich (vgl. Tab. 3).

5 mg/kg i.v. waren bei Ratten innerhalb 6 Std tödlich (2 Tiere); 1—3 mg/kg wurden überlebt (6 Tiere).

Tabelle 3. *Prozentuale Hemmung der Zitronensäure- und Bernsteinsäure-Dehydrierung durch verschiedene Konzentrationen der Gifte von Agkistrodon contortrix, Agkistrodon piscivorus, Causus rhombeatus und Sepedon haemachates im Vergleich zu Bienengift.* (Hemmung der Triphenylformazanbildung in Prozenten nach 12 Std Inkubation der Gifte bei 16—18° C). Jede Prozentzahl stellt den Mittelwert aus 2 Parallelversuchen dar; den mit * bezeichneten Werten liegen 4 Parallelversuche zugrunde.

Gifte	Substrat — Dehydrierung	1 : 10000	1 : 20000	1 : 50000	1 : 100000	1 : 200000	1 : 400000	1 : 600000	1 : 1 Million	1 : 2 Millionen	1 : 5 Millionen	1 : 10 Millionen	1 : 20 Millionen	1 : 50 Millionen	Km/Ko
Bienengift	Zitronensäure	100	100	100	100	100	100	100	94*	93*	85*	71*	53	5	112/30
	Bernsteinsäure	96	92	77	76	75	73	66	58*	46	42	21	21	8	129/12
Agkistrodon piscivorus	Zitronensäure	100	100	100	100	95	93	83	77	27	13	0	—	—	109/15
	Bernsteinsäure	78	71	67	62	59	59	50	46	35	0	—	—	—	132/13
Agkistrodon contortrix	Zitronensäure	100	100	100	100	91	77	71	63	59	27	26	0	—	143/33
	Bernsteinsäure	66	59	54	54	40	35	34	34	30	27	15	0	—	117/16
Causus rhombeatus	Zitronensäure	100	100	83	80	67	28	25	9	0	—	—	—	—	158/30
	Bernsteinsäure	81	79	64	61	15	0	—	—	—	—	—	—	—	73/2
Sepedon haemachates	Zitronensäure	86	79	84	80	68	70	72	64	37	0	—	—	—	142/31
	Bernsteinsäure	93	91	95	89	89	74	53	39	18	0	—	—	—	110/11

e) Gift von Agkistrodon piscivorus.

Agkistrodon piscivorus, die „Wassermokassinschlange", kommt in den südöstlichen Küstenstaaten der USA vor. Auch dieses Gift wirkt noch in millionenfacher Verdünnung

Tödliche Vergiftung bei i.v. Injektion an der Ratte trat erst durch 8 mg/kg ein; 1—5 mg/kg wurde überlebt (11 Tiere).

f) Gift von Bothrops atrox.

Bothrops atrox (Lachesis atrox) lebt in den Urwäldern von Guayana und Brasilien und ist neben Bothrops jararaca die gefährlichste Giftschlange Südamerikas. Nach 3 Std Inkubation ihres Giftes bei 30° C sahen wir die auf Tab. 4 verzeichneten Hemmungen.

g) Gifte der Klapperschlangen (Gattung Crotalus).

Die nativen Giftsekrete der Klapperschlangen sind in ihrer pharmakologischen Wirkungsweise nicht einheitlich: Gift von Crotalus terrificus, der einzigen Klapperschlange Südamerikas, hat keine örtliche Reizwirkung, während das Toxin von Crotalus adamanteus — ähnlich wie die meisten anderen Crotalusgifte — lokale Effekte besitzt. Nach Tetsch und Wolff[29] scheint das als Pikrat ausgefällte

toxische Prinzip von Crotalus terrificus gleichartig hergestellten Bienengiftpräparaten chemisch und wirkungsmäßig sehr nahe zu stehen.

Von besonderem Interesse war die vergleichende Prüfung einer ganzen Reihe von Giften aus der Gattung Crotalus. Die Gifte wurden jeweils 3 Std bei 30° C inkubiert. Nach abnehmender Toxizität für die Zitronensäure-Dehydrierung kann unter Einbeziehung von Bothrops atrox etwa folgende Reihe aufgestellt werden (vgl. Tab. 4): C. atricaudatus, Bothrops atrox, C. viridis > C. atrox, C. basiliscus > C. horridus, C. terrificus, C. adamanteus. Nach der Toxizität für die Bernsteinsäure-Dehydrierung scheint die Reihenfolge etwas anders zu sein: C. viridis, Bothrops atrox > C. atrox > C. basiliscus, C. terrificus, C. atricaudatus > C. horridus, C. adamanteus.

Tabelle 4. *Prozentuale Hemmung der Zitronensäure- und Bernsteinsäure-Dehydrierung in Froschmuskelbrei durch Gifte von verschiedenen Klapperschlangen und von Bothrops atrox* (Hemmung der Triphenylformazanbildung in Prozenten nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° C).

Jede Prozentzahl stellt den Mittelwert aus 2—8 Parallelversuchen dar.

Gifte	Substrate — Dehydrierung	1 : 10000	1 : 20000	1 : 50000	1 : 100000	1 : 200000	1 : 4000001	1 : : 800000	1 : 1 Million	1 : 2 Millionen	K_m/K_o
Crotalus	Zitronensäure	85	77	52	24	10	—	—	—	—	400/18
adamanteus	Bernsteinsäure	18	12	8	—	—	—	—	—	—	350/15
Crotalus	Zitronensäure	93	85	40	22	0	—	—	—	—	561/11
terrificus	Bernsteinsäure	51	43	15	10	—	—	—	—	—	302/17
Crotalus	Zitronensäure	85	65	51	28	11	8	—	—	—	75/3
horridus	Bernsteinsäure	22	18	8	—	—	—	—	—	—	69/2
Crotalus	Zitronensäure	100	100	100	93	92	54	21	—	—	90/5
atricaudatus	Bernsteinsäure	44	27	—	—	—	—	—	—	—	200/25
Crotalus	Zitronensäure	100	100	90	80	59	44	20	6	—	480/17
viridis	Bernsteinsäure	74	69	56	14	12	—	—	—	—	370/19
Crotalus	Zitronensäure	95	90	82	54	28	13	4	—	—	569/20
atrox	Bernsteinsäure	76	41	22	—	—	—	—	—	—	370/17
Crotalus	Zitronensäure	92	88	74	54	33	19	12	0	—	442/16
basiliscus	Bernsteinsäure	56	31	8	—	—	—	—	—	—	528/20
Bothrops	Zitronensäure	99	98	77	61	72	41	34	25	18	747/14
atrox	Bernsteinsäure	86	56	29	21	13	—	—	—	—	433/19

Für eine Toxizitätsprüfung an Ratten stand nur das Gift von Crotalus adamanteus (Diamant-Klapperschlange) in ausreichender Menge zur Verfügung. Die tödliche Dosis bei i.v. Injektion betrug 2—3 mg/kg (4 Tiere); überlebt wurden 1 mg/kg (2 Tiere).

h) Vergleichsversuche mit Bienengift.

In den früheren Untersuchungen mit Bienengift an Ratten- und Froschmuskelbrei (Fleckenstein, Tippelt und Kroner[19]) betrug die Inkubationszeit jeweils nur 1 Std bei Zimmertemperatur. Um bessere Vergleichsmöglichkeiten mit Schlangengiften zu haben, wurden nunmehr auch Bienengift-Versuche mit längeren Inkubationszeiten (12 Std bei 16—18° C, 3 Std bei 30° C) angesetzt; dabei wurde die gleiche native Bienengift-Charge 2/48 wie früher verwendet. Das Ergebnis dieser neuen Versuche war überraschend (vgl. Tab. 3): bis zu Konz. 1 : 50 Millionen waren Hemmungen nachweisbar. Bei längeren Inkubationszeiten als 1 Std treten die Bienengift-Wirkungen also wesentlich stärker als bisher hervor.

Bei Konz. 1 : 20 Millionen kam die absolute Menge von 0,25 γ Bienengift auf 1 g Muskelpräparat: 1 Teil natives Bienengift (Trockensubstanz) kann also das Dehydrierungsvermögen einer 4millionenfach größeren Gewichtsmenge Muskelpräparat bei geeigneten Versuchsbedingungen um 50% herabsetzen! Bei Annahme eines einheitlichen Giftes ohne unwirksame Begleitstoffe und bei einem mutmaßlichen Molekulargewicht des wirksamen Prinzips von etwa 1000 (Fassbender[12]) wäre die zu dieser Hemmung führende Mol.-Konz. etwa $-5{,}0 \times 10^{-8}$.

Natives Bienengift (Charge 2/48) ist also im Muskelbrei von Fröschen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen stärker wirksam als die stärksten dehydrasenhemmenden Schlangengifte.

Bei i. v. Injektion an Ratten steht dagegen Bienengift den stärker wirksamen Schlangengiften an Toxizität deutlich nach: Erst 5 mg/kg der Charge 2/48 führten hier zum Tode, während 3 mg/kg (3 Tiere) trotz Vergiftungssymptomen überlebt wurden; 1 mg/kg (5 Tiere) wurde symptomlos vertragen.

III. Die Inaktivierung des dehydrasen-hemmenden Prinzips durch antitoxische Sera.

Um das dehydrasenhemmende Prinzip mit einer bestimmten — für die toxischen Wirkungen am ganzen Tier entscheidenden — Giftkomponente verläßlich zu identifizieren, sind noch zahlreiche Untersuchungen chemischer und pharmakologischer Art an den nativen und gereinigten Giftsekreten der einzelnen Schlangen nötig. In erster Linie ist jedoch in allen Fällen zu prüfen,

a) ob das dehydrasenhemmende Prinzip Antigen-Charakter hat, d. h. durch antitoxisches Serum — ebenso wie die Giftwirkungen am ganzen Tier — neutralisiert werden kann;

b) ob das dehydrasenhemmende Prinzip im Muskelbrei jeweils die gleichen artspezifischen Unterschiede wie das native Giftsekret erkennen läßt, d. h. praktisch jeweils nur durch das spezifisch antitoxische Serum zu inaktivieren ist.

Für derartige Untersuchungen standen uns bis jetzt nur das Kobra-Serum (C) des Pasteur-Instituts Paris gegen die Kobra in Indien, Indo-

china und Ägypten sowie das Ammodytes-Serum der Behring-Werke gegen europäische und mediterrane Vipern zur Verfügung. Die Prüfung mußte sich daher zunächst auf Kobra- und Sandvipern-Toxin beschränken.

Methode.

Vergiftete Ansätze: Unsere Methode unterschied sich nur darin von der bisherigen Versuchsanordnung, daß in die Röhrchen *zuerst* die berechnete Menge Gift-Stammlösung gegeben wurde. Dann wurde jeweils 0,5 cm³ Vipernserum bzw. Kobra-Serum zugesetzt und mit reinem Phosphatpuffer auf ein Flüssigkeitsvolumen von 2,5 cm³ aufgefüllt. Erst nach 10 min Stehen dieser Mischung bei Zimmertemperatur kam dann 1 g Muskelpräparat in die Röhrchen. Als Inkubationszeit wurden 3 Std bei 30°C gewählt. Die serumfreien Kontrollen enthielten nur Giftlösung + Phosphatpuffer (gesamtes Flüssigkeitsvolumen 2,5 cm³) während der Inkubationsperiode.

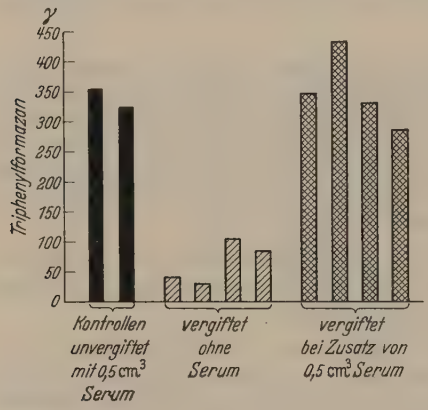


Abb. 1. Völlige Aufhebung der dehydrasenhemmenden Wirkung von Ammodytes-Gift (Konz. 1 : 400000) durch 0,5 cm³ Vipern-Serum der Behringwerke. Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat bei Zusatz von Zitronensäure (Jeweils Mittelwerte aus 2 bis 4 Versuchen).

Unvergiftete Kontrollen: Um festzustellen, ob das Serum selbst dehydrierbare Substrate enthält, die zu Triphenylformazanbildung führen könnten, bzw. ob es durch seine Eigenfarbe die Extinktion erhöht, wurden jeweils auch unvergiftete Kontrollen *ohne Substrat* mit und ohne Serumbeigabe angesetzt. Außerdem wurde jeweils an unvergifteten Kontrollen *mit Substratzusatz* untersucht, ob beigegebenes Serum etwa von sich aus die Dehydrierungen beeinträchtigt. Während 0,5 cm³ Kobra-Serum des Pasteur-Instituts weder die Extinktion erhöhte noch die Dehydrierung hemmte, gab 0,5 cm³ Vipernserum der Behring-Werke in unseren Ansätzen eine mäßig verstärkte Extinktion und setzte andererseits die Dehydrierungen im Muskelbrei herab. Trotzdem waren auch die Ergebnisse mit Vipernserum eindeutig.

a) Die Schutzwirkung von antitoxischem Vipern-Serum gegen die Vergiftung der Zitronensäure-Dehydrase durch Sandvipern-Gift.

In Abb. 1 ist die völlige Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips von Ammodytes-Gift (Konz. 1 : 400000) durch 0,5 *cm³* Vipern-Serum der Behring-Werke wiedergegeben. Ähnliche Ergebnisse hatten wir bei Konz. 1 : 800000. Dagegen war 0,5 cm³ Kobra-Serum (C) des Pasteur-Instituts unter denselben Versuchsbedingungen gegenüber der Dehydrasen-Hemmung durch Ammodytes-Gift ohne stärkeren Schutzeffekt, eine gewisse Wirkung war jedoch vorhanden (vgl. Tab. 5). Das dehydrasenhemmende Prinzip im Ammodytes-Gift kann also durch Kobra-Serum ebensowenig neutralisiert werden wie die toxischen Wirkungen

von Ammodytes-Gift am ganzen Tier oder an isolierten Organen (z. B. Froschherz, vgl. SCHAUMANN[27]).

b) Die Schutzwirkung von Kobra-Serum (C) des Pasteur-Instituts gegen die Vergiftung der Zitronensäure-Dehydrase durch Kobra-Toxin.

Klinisch brauchbares Kobra-Serum muß in einer Menge von 2 cm³ die Giftwirkung von 1 mg Kobra-Gift bei gleichzeitiger subkutaner Injektion an einem 2 kg schweren Kaninchen völlig aufheben können. Auch wenn 1 mg Kobra-Toxin erst 1 Std nach der subkutanen Gabe von 2 cm³ Serum injiziert wird, muß noch

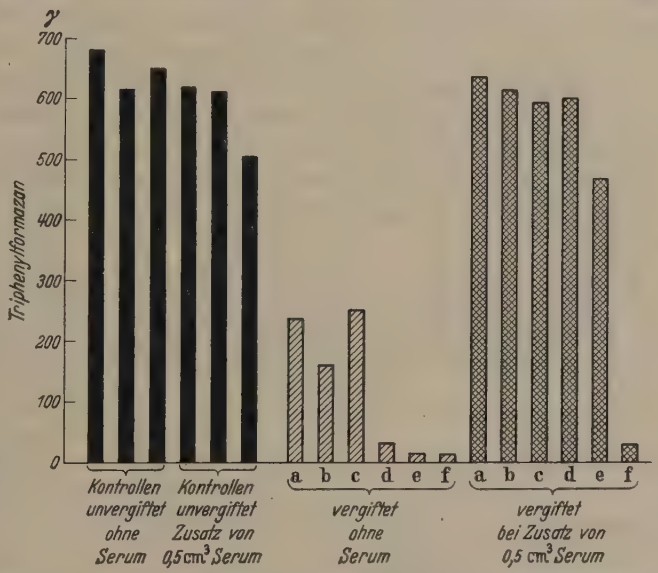


Abb. 2. Völlige Aufhebung der dehydrasenhemmenden Wirkung von Kobra-Gift (Konz. 1 : 800000 bis 1 : 20000) durch 0,5 cm³ Kobra-Serum. Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat bei Zusatz von Zitronensäure. (Jeweils Mittelwerte aus 2—4 Versuchen). a = Kobra-Gift, Konz. 1 : 800000; b = Kobra-Gift, Konz. 1 : 400000; c = Kobra-Gift, Konz. 1 : 200000; d = Kobra-Gift, Konz. 1 : 100000; e = Kobra-Gift, Konz. 1 : 20000; f = Kobra-Gift, Konz. 1 : 10000.

Neutralisation des Giftes eintreten. Am isolierten Froschherzen konnte SCHAUMANN[27] den systolischen Stillstand, der hier durch Kobra-Gift (Naja flava) erzeugt wird, ebenfalls in einem Mischungsverhältnis 2 cm³ Serum/1 mg Gift verhüten. Beim gleichen Mischungsverhältnis wurde auch die Giftwirkung auf den Meerschweinchenvorhof und den elektrisch gereizten Froschmuskel aufgehoben; beim Mischungsverhältnis 1 cm³ Kobra-Serum/1 mg Gift war dagegen die Schutzwirkung noch nicht genügend. Versuche an Hunden und Tauben sowie therapeutische Beobachtungen am Menschen deuten etwa auf die gleiche Aktivität des Kobra-Serums wie beim Kaninchen hin.

Diese genauen quantitativen Angaben über die antitoxische Wirkungsstärke des Kobra-Serums veranlaßten uns, auch die Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips quantitativ in vitro zu prüfen. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 wiedergegeben: *Bei Zusatz von 0,5 cm³ Kobra-*

Serum lassen sich die z. T. hochgradigen Hemmungen der Zitronensäure-Dehydrierung, welche durch Kobra-Gift in Konz. 1 : 800000—1 : 20000 verursacht werden, völlig neutralisieren. Bei Konz. 1 : 20000 war in den Röhrchen jeweils die absolute Menge von $^1/_4$ mg, bei Konz. 1 : 10000 von $^1/_2$ mg Kobra-Gift enthalten; 0,5 cm³ Serum kann also nur $^1/_4$ mg, nicht aber $^1/_2$ mg Kobra-Gift inaktivieren.

Es ergibt sich somit die Tatsache, daß das dehydrasenhemmende Prinzip im Kobra-Gift genau im gleichen Mischungsverhältnis 2 cm³ Serum/1 mg Gift neutralisiert wird wie das für die Vergiftung des ganzen Tieres entscheidende toxische Prinzip. In der Spezifität scheint ebenfalls Übereinstimmung zu bestehen; denn das — gegen Ammodytes-Toxin wirksame — Vipern-Serum der Behring-Werke besitzt gegenüber dem dehydrasenhemmenden Prinzip im Kobra-Gift ebensowenig Schutzwirkung wie gegenüber nativem Kobra-Gift am ganzen Tier (vgl. Tab. 5). Weiterhin ist die Hitzeresistenz bei 80° C nach unseren Beobachtungen dem dehydrasenhemmenden und dem eigentlich toxischen Prinzip im Kobra-Gift gemeinsam.

Tabelle 5. *Einfluß von Kobra- und Ammodytes-Serum auf die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch Kobra-Toxin, Ammodytes-Toxin und Bienengift.* (Hemmung der Triphenylformazanbildung in Prozenten nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° C, Mischung von Gift und Serum 10 min vor Zusatz des Muskel-Präparats.)

Gift-Konzentrationen im Muskelbrei		Hemmung % ohne Serum	Hemmung % bei Zusatz von 0,5 cm³ Ammodytes-Serum	Hemmung % bei Zusatz von 0,5 cm³ Kobra-Serum
Ammodytes-Toxin	Konz. 1 : 400000	75	0	52
	1 : 800000	62	0	38
Kobra-Toxin	Konz. 1 : 400000	63	62	0
	1 : 800000	45	44	0
Bienengift	Konz. 1 : 1000000	92	91	> 90
	1 : 2000000	75	89	> 90

Analog dem Verhalten am ganzen Tier nimmt der Schutzeffekt des Kobra-Serums gegenüber der Vergiftung der Zitronensäure-Dehydrase um so mehr ab, je später das Serum nach dem Giftzusatz gegeben wird. In Abb. 3 sind Versuche mit Kobra-Gift (Konz. 1 : 100000) zusammengefaßt dargestellt, bei denen in wachsendem zeitlichen Abstand nach dem Giftzusatz jeweils 0,5 cm³ Serum in die Röhrchen gegeben wurde.

Besprechung.

a) Angriffspunkte der Schlangengifte im Zellstoffwechsel.

Die vorliegenden Untersuchungen haben in Erweiterung unserer früheren Befunde ergeben, daß ein hochaktives dehydrasenhemmendes

Prinzip im nativen Giftsekret von Colubriden (Naja naja, Sepedon haemachates, weniger von Naja nivea) und von Viperiden (Ammodytes ammodytes, Causus rhombeatus, Agkistrodon contortrix, Agkistrodon piscivorus, Bothrops atrox) vorhanden ist. Auch die Toxine von Klapperschlangen (Gattung Crotalus), wie z. B. C. atricaudatus, C. viridis, C. atrox, C. basiliscus, C. horridus, C. terrificus, C. adamanteus, hemmen die Bernsteinsäure- bzw. Zitronensäure-Dehydrierung beträchtlich. Von den untersuchten Schlangengiften war allein bei dem Toxin der afrikanischen Puffotter (Bitis arietans) die Dehydrasen-Schädigung geringfügig. Dagegen ließ Bienengift (Charge 2/48) bei 12 Std Inkubation bis zu einer Verdünnung von 1 : 50 Millionen Wirkungen erkennen. Bienengift und zahlreiche Schlangengifte können also unter Umständen noch in Spuren in den Hauptweg des oxydativen Stoffabbaus (Zitronensäure-Zyklus) blockierend eingreifen.

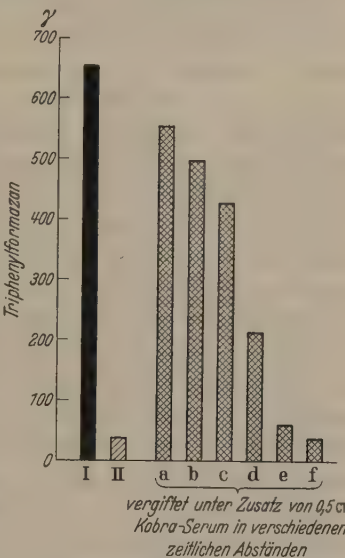


Abb. 3. Abnahme der Schutzwirkung von 0,5 cm³ Kobra-Serum bei nachträglichem Zusatz in die mit Kobra-Toxin (Konz. 1 : 100000) vergifteten Muskelpräparate. Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat aus Zitronensäure. (Jeweils Mittelwerte aus 2—4 Versuchen). a = Serumzusatz sofort; b = Serumzusatz nach 20 min; c = Serumzusatz nach 40 min; d = Serumzusatz nach 60 min; e = Serumzusatz nach 90 min; f = Serumzusatz nach 120 min.

Es ist in Anbetracht der außerordentlich umfangreichen Literatur über Schlangengifte eigenartig, daß gerade über die Beeinflussung desmolytischer Fermentprozesse bisher sehr wenig bekannt ist. Systematische Untersuchungen an intaktem tierischem Zellmaterial über die Wirkungen der Schlangengifte auf Atmung und Glykolyse liegen anscheinend bisher überhaupt nicht vor. Hemmende Effekte von Kobra-Gift auf die Hefeatmung und Hefegärung wurden von Taguet, Rousseau und Dumatras[28] beobachtet. Chain[10] fand, daß eine Reihe von Schlangengiften — darunter auch Gift von Bothrops atrox (Konz. 1 : 2500 bis 1 : 5000) und Naja naja (Konz. 1 : 1000) — die Glykolyse in einem zellfreien Muskelextrakt und die Gärung in zellfreiem Hefeextrakt hemmen können. Durch antitoxisches Serum ließen sich diese Effekte verhüten. Nähere Anhaltspunkte für dehydrasenschädigende Wirkungen ergaben sich aus Versuchen von Chain[11] mit dem Gift der australischen schwarzen Tigerschlange (Notechis scutatus). In Konz. 1 : 2000—1 : 3000 hemmte dieses Gift die Milchsäure-, Äpfelsäure- und β-Oxybuttersäure-Dehydrierung vollständig, während die Bernsteinsäure-Dehydrierung weniger geschädigt wurde. Chain vertrat dabei die Auffassung, daß das Toxin der Tigerschlange die Cozymase inaktiviert. Auch Untersuchungen von Macht und Bryan[24] mit Kobra-Gift ließen schon auf Angriffspunkte in den Dehydrasensystemen schließen: Diese Autoren untersuchten Morphin und das gleichfalls analgetische Kobra-Gift an Gehirnbrei und fanden, daß beide Stoffe die Entfärbung von zugesetztem Methylenblau verzögern können. Bei Kobra-Gift trat

dieser Effekt erst nach längerem Kontakt mit dem Gehirnbrei ein, während Morphin rascher wirkte. Macht und Bryan sahen hierin eine Analogie zu den zeitlichen Verschiedenheiten zwischen der schnellen schmerzstillenden Wirkung von Morphin und der langsamen Wirkung von Kobra-Gift. Eigene Befunde über die atmungshemmende Wirkung von Bienengift an Hefe sind schon früher[19] mitgeteilt worden.

b) Zur Spezifität des dehydrasenhemmenden Prinzips.

Das im Gift der Colubriden, Viperiden und Bienen vorhandene dehydrasenschädigende Prinzip ist offensichtlich nicht ein und derselbe Körper, sondern zeigt artspezifische Verschiedenheiten; so kann das dehydrasenhemmende Prinzip im Ammodytes-ammodytes-Gift — ähnlich wie das eigentliche toxische Prinzip des nativen Giftsekrets — durch Ammodytes-Serum inaktiviert werden, während Kobra-Serum nur ganz schwach wirksam ist. Umgekehrt schützt nur Kobra-Serum, nicht aber Ammodytes-Serum, gegen die Dehydrasen-Hemmung durch Kobra-Gift. Gegen die Dehydrasen-Hemmung durch Bienengift sind beide Sera inaktiv. Beim Kobra-Gift ist eine Identität des dehydrasenhemmenden Prinzips mit dem entscheidenden toxischen Prinzip, dem „Neurotoxin", in hohem Maße wahrscheinlich; denn auch das dehydrasenhemmende Prinzip zeigt eine hohe Hitzeresistenz und kann außerdem in unseren Versuchen im gleichen Mischungsverhältnis 2 cm^3 Serum/1 mg Gift neutralisiert werden wie die Giftwirkung am ganzen Tier. *Im Falle des Kobra-Gifts läßt sich also offenbar die antitoxische Wirkungsstärke eines Serums quantitativ in vitro an der Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips bestimmen.* Wieweit diese Methode auch praktische Bedeutung erhalten kann und ob sie auch zur Titration anderer antitoxischer Schlangensera verwendbar ist, muß erst die weitere Prüfung ergeben. Beim Bienengift könnte ebenfalls die Ähnlichkeit in der Hitzeresistenz für eine Identität des dehydrasenhemmenden Prinzips mit dem entscheidenden toxischen Prinzip sprechen.

c) Kontrakturwirkungen der Schlangengifte an der quergestreiften Muskulatur.

Die Gifte von Naja flava und Ammodytes verursachen an quergestreiften Froschmuskeln eine Kontraktur und am isolierten Froschherzen und Meerschweinchenvorhof systolischen Stillstand (Schaumann[27]). Auch die Gifte der indischen Kobra sowie südamerikanischer Vipern erzeugen nach Houssay und Mazzocco[21] Dauerverkürzungen. Auf die Ähnlichkeit dieser Muskelwirkungen mit den Effekten der Monojodessigsäure („Lundsgaard-*Effekt*" nach Bacq[7]) hat Schaumann[27] schon 1936 hingewiesen; er warf dabei die Frage auf, ob nicht vielleicht dem systolischen Stillstand am Herzen und der Kontrakturwirkung am Extremitätenmuskel derselbe Wirkungsmechanismus wie bei der Monojodessigsäure-Vergiftung zugrunde liege. Da jedoch Houssay und Mazzocco bei der Kobra-Vergiftung des Muskels neben einer Vermehrung von Laktazidogen und anorganischem Phosphor eine Vermehrung der Milchsäure fanden, mußten die Angriffspunkte von Kobra-Gift andere als von Monojodessigsäure sein, da diese ja die Glykolyse blockiert. Diese Schwierigkeiten in der Deutung der Schlangengiftkontrakturen bestehen

heute nicht mehr; denn schon in vorausgegangenen Untersuchungen (Fleckenstein, Brose, Canis und Förderer[17]) ist gefunden worden, daß auch andere — im Zitronensäurezyklus angreifende — Dehydrasengifte; wie z. B. Allylsenföl, Acrolein, Ester der Monohalogenessigsäuren, Monohalogenazetone, Chlorazetophenon, Dauerverkürzungen erzeugen können, welche äußerlich von der Monojodessigsäure-Kontraktur nicht zu unterscheiden sind, aber ohne jede Beeinträchtigung der Milchsäurebildung zustande kommen. Von Interesse ist, daß das Toxin von Bitis arietans, das in unseren Versuchen die Zitronensäure- und Bernsteinsäure-Dehydrierung nur sehr wenig hemmt, nach Schaumann[27] auch keine Kontrakturen erzeugt.

d) Entzündungs-Wirkung der Schlangen-Gifte.

Zusammenhänge zwischen Dehydrasenhemmung, Schmerz und Entzündung haben sich schon in vorausgegangenen Untersuchungen[14, 15, 16] bei einer Anzahl von halogenhaltigen und halogenfreien Reizstoffen ergeben. Die jetzt vorliegenden Befunde mit Bienengift und Schlangengiften zeigen, daß offenbar auch tierische Gifte mit örtlicher Reizwirkung ähnliche Angriffspunkte in den wasserstoffaktivierenden Fermentsystemen besitzen können. Bienengift und Viperngifte weisen dabei erhebliche örtliche Effekte auf, während die Colubridengifte (Naja flava, Sepedon haemachates, Naja nigricollis) nur unter besonderen Bedingungen, z. B. bei Applikation am Auge, starke Entzündungswirkungen erkennen lassen. Schaumann[27] fand z. B. bei Anwendung von Ammodytes- *und* Naja-flava-Toxin noch in Verdünnung 1 : 10000 eine schwere Konjunktivitis am Auge des Kaninchens. Auch die resorptiven Schädigungen[1, 2, 4] parenchymatöser Organe (Niere, Leber, Nebenniere usw.) durch Schlangengifte erinnern an die Wirkung von Dehydrasengiften bekannter chemischer Konstitution.

Die geringen örtlichen Effekte der Colubridengifte beim Biß und bei Injektion erklären sich wohl zum Teil daraus, daß die Resorptionsgeschwindigkeit dieser Gifte relativ groß ist, während die Hemmung der Dehydrasen erst nach längerem Kontakt eintritt. So kann am Applikationsort die Resorption vermutlich schneller vor sich gehen als die Schädigung des Gewebes. Trotzdem bestehen auch prinzipielle Besonderheiten; denn das Toxin von Naja haje macht am Kaninchenauge selbst in Konz. 1 : 1000 keine Entzündung (Schaumann[27]); gleichzeitig fehlt aber auch die Kontrakturwirkung am Muskel (!). Bei den örtlichen Entzündungseffekten nativer Schlangengifte dürften zum Teil auch „Hämorrhagine" eine Rolle spielen; diese sind in einzelnen Fällen durch ihre leichtere Inaktivierbarkeit in Hitze von den „Neurotoxinen" abzutrennen. Stärkste hämorrhagische Effekte in vivo bei geringer Dehydrasenhemmung in vitro läßt das Gift von Bitis arietans erkennen.

e) Natur und Bedeutung des dehydrasenhemmenden Prinzips im Vergleich zu anderen toxischen Komponenten der nativen Gifte.

Die Dehydrasen-Schädigung durch Bienengift und Schlangentoxine scheint nicht wenige Symptome der Vergiftung — wenigstens in den Grundzügen — zu erklären. Trotzdem darf nicht übersehen werden, daß die Vergiftungsbilder vor allem am ganzen Tier (vgl. dazu die zusammenfassenden Darstellungen von Faust[1], Flury[2], Phisalix[3], Gessner[4] u. a.) zum Teil noch sehr undurchsichtig sind. Resorption, Verteilung und Exkretion sind sehr wesentliche Faktoren, die darüber entscheiden können, an welcher Stelle des Körpers sich die Giftwirkung äußert. Es entstehen so spezifische Angriffspunkte der Dehydrasen-

Gifte an lebenswichtigen Organen und Organfunktionen (Kreislauf, Zentralnervensystem, motorische Endplatten, Blutzellen, Herz, parenchymatöse Organe). Man darf darum erwarten, daß der Tod durch Dehydrasen-Gifte im allgemeinen sekundär infolge des Versagens einer dieser Organfunktionen verursacht ist. Bei Vergiftung des ganzen Tieres z. B. mit Bienengift scheint nach eigenen, bisher unveröffentlichten Beobachtungen der Tod nicht durch eine allgemeine Dehydrasen-Hemmung höheren Grades zu erfolgen. So erklärt sich wohl auch, daß in unseren Versuchen zwischen den in vitro festgestellten dehydrasenhemmenden Wirkungsstärken und den tödlichen i.v. Dosen an der Ratte kein Parallelismus besteht.

Mit abnehmender Toxizität für die weiße Ratte würde sich etwa folgende Reihe ergeben: Naja nivea > Sepedon haemachates > Naja naja > Crotalus adamanteus > Bitis arietans > Bienengift, Agkistrodon contortrix > Causus rhombeatus, Agkistrodon piscivorus.

Ordnet man dagegen die Gifte nach der abnehmenden dehydrasenhemmenden Wirkung im Muskelbrei, so verläuft die Reihe ganz anders:

Bienengift > Agkistrodon contortrix, Agkistrodon piscivorus > Naja naja, Sepedon haemachates > Causus rhombeatus > Naja nivea, Crotalus adamanteus > Bitis arietans. Beim Gift von Bitis arietans ist diese Diskrepanz am auffälligsten.

Bekanntlich werden nach den heute gültigen Vorstellungen die nativen Schlangengifte meist als „Komplexgifte" angesehen, die jeweils aus verschiedenen „Partialtoxinen" („Neurotoxine", „Hämolysine", „Cytolysine", „Hämorrhagine") bestehen können und außerdem noch definierte Fermentwirkungen besitzen (Thrombin-, Proteasen-, Lecithinase-, Cholinesterase-, Phosphatase-Effekte usw.). Von einer einheitlichen Zusammensetzung der nativen Gifte kann also keine Rede sein; aus dieser Vielfalt der Giftkomponenten wird die Vielfalt der Vergiftungserscheinungen verständlich. Dabei bleibt jedoch die Frage offen, ob nicht manche „Partialtoxine" lediglich Spielarten des gleichen toxischen Grundkörpers darstellen bzw. mit derartigen Fermentkomponenten zu indentifizieren sind.

Auch die Natur und der Wirkungsmechanismus des dehydrasen-hemmenden Prinzips ist noch unklar. Einige noch nicht näher publizierte Befunde scheinen jedoch dafür zu sprechen, daß die Schädigung der Dehydrierungsprozesse mit bestimmten Phosphatase-Effekten in Zusammenhang steht. So fanden wir z. B., daß bei Zusatz des Phosphatase-Inhibitors NaF bzw. Na-Citrat die dehydrasenhemmende Wirksamkeit von Bienengift und Schlangengiften bedeutend abgeschwächt wird. Es ist gut denkbar, daß die eigentlichen Angriffspunkte des dehydrasen-hemmenden Prinzips am Phosphat der Codehydrase I bzw. II liegen; schon Chain [10] hat auf diese Möglichkeit aufmerksam gemacht. Eine Schwierigkeit besteht aber darin, daß auch die Bernsteinsäure-Dehydrierung, welche ohne Beteiligung der Cozymase verläuft, von Bienengift und Schlangengiften sehr stark gehemmt wird. Aus den vorgelegten Befunden ergeben sich also eine ganze Reihe noch ungelöster toxikologischer und fermentchemischer Probleme, die erst in weiteren Untersuchungen zu klären sind.

Zusammenfassung.

1. Schlangengifte (Naja naja, Sepedon haemachates, Ammodytes ammodytes, Causus rhombeatus, Agkistrodon contortrix, Agkistrodon piscivorus, Bothrops atrox) verursachen noch in millionenfacher

Verdünnung im Muskelbrei von Fröschen Hemmungen der Zitronensäure-Dehydrierung; ähnlich stark ist die Schädigung der Milchsäure- und Brenztraubensäure-Dehydrierung (Versuche mit den Giften von Naja naja, Sepedon haemachates und Ammodytes ammodytes). Der Abbau von Bernsteinsäure wird jeweils weniger betroffen.

2. Auch die Toxine der Klapperschlangen (Crotalus atricaudatus, viridis, atrox, basiliscus, horridus, terrificus, adamanteus) sind teilweise noch in mehr als hunderttausendfacher Verdünnung gegenüber der Zitronensäure-Dehydrierung wirksam. Das Gift von Naja nivea besitzt schwächere Effekte; Bitis-arietans-Toxin hemmt nur geringfügig. Bienengift reduziert dagegen nach länger-dauernder Inkubation den Abbau der Zitronensäure stärker als alle bisher geprüften Schlangengifte; bis zu einer Grenzkonzentration von 1 : 50 Millionen waren Wirkungen zu erkennen.

3. Das dehydrasenhemmende Prinzip ist durch spezifische antitoxische Sera in vitro zu inaktivieren: Gegen die Dehydrasen-Hemmung durch Ammodytes-Toxin hat nur Ammodytes-Serum einen stärkeren Schutzeffekt. Umgekehrt wird das dehydrasenhemmende Prinzip des Kobra-Giftes nur durch Kobra-Serum — nicht aber durch Ammodytes-Serum — inaktiviert. Gegen Bienengift ist Ammodytes- und Kobra-Serum wirkungslos.

4. Das dehydrasenhemmende Prinzip des Kobra-Giftes und des Bienengiftes stimmt in der Hitzeresistenz mit dem entscheidenden toxischen Prinzip (Neurotoxin) des nativen Giftes überein. Die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch Kobra-Gift läßt sich in vitro im gleichen Mischungsverhältnis 1 mg Gift/2 cm^3 Kobra-Serum verhüten wie die Giftwirkungen am ganzen Tier. Bei nachträglichem Zusatz von Kobra-Serum zu vergiftetem Muskelbrei nimmt der Schutzeffekt des Serums — analog zu den Verhältnissen am ganzen Tier — rasch ab; nach 2 Std Inkubation des Kobra-Giftes ist Serumzusatz wirkungslos.

5. Bienengift und Schlangengifte stimmen — hinsichtlich ihrer hemmenden Wirkungen auf den Dehydrasen-Anteil des oxydativen Stoffwechsels — mit den schmerz- und entzündungserregenden Zellgiften von bekannter chemischer Konstitution (Ester der Monohalogenessigsäuren, monohalogenierte Ketone, Akrolein, Allylsenföl, Halogenzyane, Chloracetophenon, Benzylbromid, Xylylbromid, arsenhaltige Reizstoffe) weitgehend überein. Dies weist erneut darauf hin, daß die Schmerz- und Entzündungseffekte derartiger Gifte mit gutem Recht auf eine spezifische Hemmung wasserstoffaktivierender Fermentprozesse bezogen werden können.

6. Auch die resorptiven Schädigungen parenchymatöser Organe (Niere, Leber, Nebennieren usw.) sowie die irreversible Kontrakturwirkung

von Schlangengiften an quergestreiften Kaltblütermuskeln und am isolierten Froschherz stehen in Analogie zu den Effekten von Dehydrasen-Giften bekannter chemischer Konstitution. Die Möglichkeit, daß die Dehydrasen-Hemmung auf dem Wege über gewisse Phosphatase-Wirkungen des Bienengifts und der Schlangengifte zustande kommt, wird diskutiert.

Für die entscheidende Förderung der vorliegenden Untersuchungen sind wir Herrn Prof. Dr. F. Eichholtz zu großem Dank verpflichtet. Sehr zu danken haben wir auch den Herren Prof. Dr. Boquet (Pasteur-Institut), Prof. Dr. Demnitz (Marburg), Prof. Dr. Dr. W. Neumann (Würzburg), Prof. Dr. Th. Wieland (Mainz) für die liebenswürdige Überlassung von Giften bzw. der benötigten Sera. Besonders verbunden sind wir der Importfirma van Wankum & Gätjens, Hamburg 1, Heidenkampsweg 32, die bei der Beschaffung der meisten Schlangengifte in großzügiger Weise behilflich war.

Literatur.

Zusammenfassende Darstellungen Zitat Nr. 1—5: [1] Faust, E. St.: Handb. d. exper. Pharmakologie Bd. II, 2 S. 1748. — [2] Flury, F.: Tierische Gifte und ihre Wirkung. Bethes Handb. d. norm. u. path. Physiol. **13**, 102 (1929). — [3] Phisalix, M.: Animaux vénimeux **1** u. **2**, Paris 1922. — [4] Gessner, O.: Tierische Gifte. Handb. d. exper. Pharmakologie, Erg.-Werk Bd. 6 S. 1. — [5] Behringer, H.: Tierische Gifte. Naturwiss. u. Medizin in Dtschl. 1939 –46, Biochemie, Teil II S. 225. — [6] Abderhalden, E.: Lehrbuch der Physiol. Chemie, S. 151, 26. Aufl. Basel 1948. — [7] Bacq, Z. M., u. M. Goffart: C. r. Soc. Biol. Paris **133**, 694 (1940); **133**, 696 (1940). — [8] Beaujean, R.: zit. nach M. Phisalix[3]. — [9] Bonsmann, M. R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 167 (1942); **201**, 155 (1943). — [10] Chain, E.: Quart. J. of exper. Physiol. **26**, 299 (1937); **27**, 49 (1937). — [11] Chain, E.: Biochemic. J. **33**, 407 (1939). — [12] Fassbender, W.: Biochem. Z. **317**, 246 (1944). — [13] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 151 (1944); **205**, 21 (1948). — [14] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Steinkopff 1950. — [15] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 189 (1950). — [16] Fleckenstein, A.: u. G. Berg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 184 (1951). — [17] Fleckenstein, A., W. Brose, H. J. Canis, u. A. Förderer: Arch. exper. Path. u. Pharm. **209**, 235 (1950). — [18] Fleckenstein, A., u. J. Gayer: Klin. Wschr. **28**, 789 (1950). — [19] Fleckenstein, A., H. Tippelt, u. H. Kroner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — [20] Gautrelet, J., N. Halpern, u. E. Corteggiani: Arch. internat. Pharmacodyn. **53**, 297 (1936). — [21] Houssay, B. A., u. P. Mazzocco: C. r. Soc. Biol. Paris **93**, 1120 (1925). — [22] Jerchel, D., u. W. Möhle: Ber. dtsch. Chem. Ges. **77**, 591 (1944). — [23] Kuhn, R., u. D. Jerchel: Ber. dtsch. Chem. Ges. **74**, 941, 949 (1941). — [24] Macht, D., u. H. F. Bryan: C. r. Soc. Biol. Paris **123**, 385 (1936). — [15] Micheel, F., u. E. Bösser: Z. Physiol. Chem. **239**, 225 (1936). — [26] Micheel, F., u. F. Jung: Z. Physiol. Chem. **239**, 217 (1936). — [27] Schaumann, O.: Behringwerk Mitteilungen, Heft 7, S. 33 (1936). — [28] Taguet, C., E. Rousseau, u. E. Dumatras: C. r. Soc. Biol. Paris **113**, 9 (1933). — [29] Tetsch, C., u. K. Wolff: Biochem. Z. **288**, 126 (1936). — [30] Wieland, H., u. W. Konz: Sitz.ber. bayer. Acad. Wiss. Math.-physikal. Kl. H. 2, 177 (1936).

Dozent Dr. A. Fleckenstein, Heidelberg, Pharmakol. Institut, Hauptstr. 47/51.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 283—313 (1951).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. M. Schneider).

Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe *.

I. Mitteilung:

Die Blutdruckwirkung.

Von
Kurt Wiemers.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. November 1950.)

Unter dem Eindruck der pressorischen Kreislaufwirkung des Adrenalins und Ephedrins hat sich die Erforschung der Sympathicomimetica besonders solchen Stoffen zugewendet, die sich chemisch durch Strukturveränderungen am aromatischen Kern und an der Seitenkette unterscheiden (zusammenfassende Darstellungen[4, 14, 18]). Untersuchungen über den Einfluß einer Substitution der Aminogruppe beschränken sich demgegenüber vielfach auf den Vergleich der methylierten Verbindung mit dem primären Amin.

Längere aliphatische Radikale wurden bei Adrenalinderivaten durch Konzett[19] und andere [32, 28, 29], bei Ephedrinderivaten in einer älteren Arbeit von Chen und Mitarbeitern[6] und in neuerer Zeit bei Sympatolderivaten durch Unna[41], Lands und Mitarbeiter[30], Duesberg[8] sowie Marsh und Herring[31] geprüft. In den homologen Reihen vollzieht sich eine charakteristische Abwandlung der Kreislaufwirkung, indem die gefäßverengernden Wirkungen zurücktreten und gefäßerweiternde Eigenschaften zum Vorschein kommen.

So wirkt in der Adrenalingruppe das primäre Amin bei jeder Dosierung fast ausschließlich konstriktorisch[2, 5, 11]; die durch Arterenol ausgelöste Blutdrucksteigerung ist ein Widerstandshochdruck, kenntlich am Anstieg auch des diastolischen Drucks. Das Herzminutenvolumen wird vermindert[12, 17].

* Dem Andenken an Prof. Dr. F. Külz gewidmet. Prof. Külz hat als Pharmakologe die Richtlinien für die Entwicklung in dieser Stoffklasse gegeben und die pharmakologische Beurteilung durchgeführt. Er hat uns die Substanzen zur Prüfung auf ihre Kreislaufwirkung übergeben. Durch seine Erkrankung und seinen frühzeitigen Tod ist unser Anteil an der Untersuchung der Stoffgruppe größer geworden als ursprünglich geplant war. Wir sind ihm für zahlreiche Ratschläge und Hinweise zu größtem Dank verpflichtet.

Die N-methylierte Verbindung (Adrenalin) wirkt bereits schwächer pressorisch, zudem ist die Blutdrucksteigerung nicht mehr ausschließlich durch Vasokonstriktion, sondern wesentlich durch Steigerung des Herzminutenvolumens mit verursacht[11, 12]. Bei den niedrigen Dosen werden, vor allem an den Muskelgefäßen[33, 37], dilatierende Wirkungen sichtbar, so daß der periphere Gesamtwiderstand erniedrigt wird[12, 43]. Deutlicher wird die gefäßerweiternde Komponente nach Vorbehandlung mit einem Sympathicolyticum.

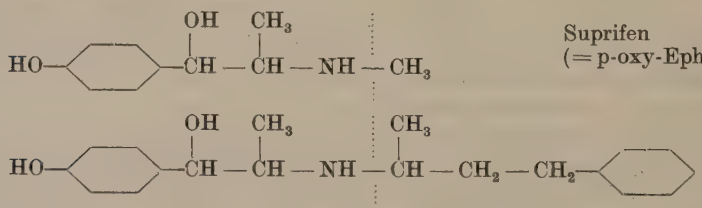
Das Äthylderivat wirkt nur mehr in hohen Dosen pressorisch[19, 36] und Isopropyl-nor-Adrenalin bereits rein gefäßerweiternd[19].

In der Adrenalin- wie auch in der Sympatolgruppe wird anscheinend mit der Einführung drei- und viergliedriger Alkylreste ein Optimum der gefäßerweiternden Wirkung erreicht und mit weiterer Verlängerung nimmt die allgemeine Wirkungsstärke ab.

Wie KÜLZ[20, 23, 24] zeigen konnte, läßt sich jedoch durch N-Substitution aliphatisch-aromatischer Reste eine weitere Verstärkung inhibitorischer Wirkungen erzielen. In den letzten Jahren haben wir von KÜLZ entwickelte aralkylierte Sympathicomimetica auf ihre Blutdruckwirkung geprüft. Es ergab sich, daß diese Stoffe eine höhere Wirkungsstärke und größere therapeutische Breite besitzen als die homologen, rein aliphatisch substituierten Verbindungen, und daß ferner die fördernde Wirkung auf das Herzminutenvolumen erhalten bleibt oder sogar verstärkt wird; infolgedessen sinkt der arterielle Mitteldruck trotz anhaltender Gefäßerweiterung nur wenig ab, so daß ein für die periphere Mehrdurchblutung ausreichendes Druckgefälle erhalten bleibt.

Besonders eingehend untersuchten wir aralkylierte Derivate des Adrenalins und des p-oxy-Ephedrins (Suprifen). Das Suprifen wurde als Ausgangspunkt gewählt, weil bei ihm die pressorische Wirkung mehr als bei anderen Stoffen der Adrenalin-Benzedrinreihe zugunsten einer Widerstandssenkung zurücktritt[10, 39].

Als optimal erwies sich der Ersatz der Methylgruppe am N-Atom des Suprifens durch einen Phenyl-sek.-butyl-Rest, der im folgenden mit Psb abgekürzt wird:

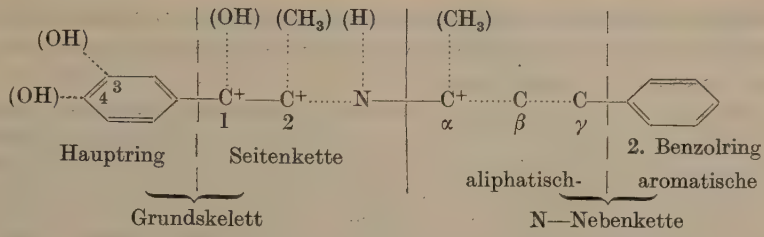


Suprifen
(= p-oxy-Ephedrin)

Suprifen-Psb
= 1-(p-oxyphenyl) 2-(1′methyl-3′-phenyl-propyl-amino) propanol*

Die übrigen 50 untersuchten Verbindungen lassen sich vom Suprifen-Psb abgeleitet denken. Zur besseren Verständigung diene folgendes Strukturschema:

* „Dilatol"; Herstellerfirma Tropon-Werke Köln-Mülheim.



Die wichtigsten Variationsmöglichkeiten sind durch gestrichelte Linien angedeutet. Die mit + versehenen C-Atome werden durch Substitution optisch aktiv.

Die untersuchten Substanzen lassen sich auf Grund dieser Gliederung folgendermaßen gruppieren:

in Verbindungen, die sich durch den aliphatischen Teil der am Stickstoff substituierten Nebenkette unterscheiden, und zwar nach Länge und Form dieses aliphatischen Teils;

in Verbindungen mit gleicher N-Nebenkette (Aralkyl, meist Psb), aber verschiedenem Grundskelett; sie bilden eine Parallelreihe zu den bekannten Substanzen der Adrenalin-Benzedrinreihe und unterscheiden sich untereinander durch Anzahl und Stellung der Hydroxylgruppen sowie durch Anwesenheit oder Fehlen der Methylgruppe am C_2-Atom;

in Verbindungen, die sich eng an solche der zweiten Gruppe anschließen, bei denen das Grundskelett aber noch zusätzlich abgewandelt ist;

in Verbindungen mit rein aliphatischer Nebenkette, die in die Versuche einbezogen wurden, um den Einfluß des zweiten Benzolringes isoliert zu prüfen;

in Isomere des Suprifen-Psb.

I. Tierversuche.

Das vorliegende Material umfaßt 35 Blutdruckversuche und 50 Thermostromuhrversuche, deren Blutdruckkurven hier ausgewertet sind. Für einige Substanzen wurden ältere unveröffentlichte Versuche von Thauer mit verwendet.

Als Versuchstiere wurden Hunde bevorzugt, weil ihr Blutdruck über längere Zeit konstant bleibt, während der Blutdruck der Katze bei längerer Versuchsdauer oft spontan absinkt.

Als Narkotica kamen bei Hunden Morphin (0,0025/kg)-Evipan (0,1/kg) oder Morphin (0,0025/kg)-Chloralose (0,1/kg) zur Anwendung, bei Katzen Evipan (0,1/kg s.c.) sowie in Einzelfällen Pernocton (0,5 cm^3/kg i.m. und s.c.) und bei einem Hund Morphin allein.

Die Druckmessung erfolgte blutig in der Art. carotis comm., brachialis oder femoralis, teils mit einem Feder-Hebelmanometer nach Frank-Petter, teils mit einem einfachen Membran-Hebelmanometer oder einer Frankschen Kapsel.

Die Substanzen standen als racemische Salze, meist Hydrochloride, zur Verfügung. Die Dosierung ist stets pro Kilogramm Körpergewicht angegeben; die Unterschiede im Molekulargewicht sind nicht bedeutend und deshalb nur ausnahmsweise berücksichtigt. Wenn es die Löslichkeit nicht anders erforderte, wurden die Substanzen in 1—2 cm^3 Ringer-Lösung innerhalb 1—2 sec i.v. injiziert, meist in die Jugularvene.

Als Ergebnis kann die Feststellung vorweggenommen werden, daß die aliphatisch-aromatisch substituierten Sympathicomimetica sich im Blutdruckversuch als einheitliche Gruppe erweisen, deren Eigenschaften

wesentlich durch dies Radikal bestimmt sind. Alle untersuchten Substanzen senken den Blutdruck, vergrößern die Pulsamplitude und steigern Herz- und Atemfrequenz.

Eine qualitative Differenzierung der einzelnen Verbindungen ist oft schwierig, da die Mitteldruckkurven sich bei entsprechender Dosierung völlig gleichen können. Für einige Substanzen lassen sich aber charakteristische Unterschiede herausstellen, wenn die Teilwirkungen auf den diastolischen Blutdruck, die Blutdruckamplitude und die Herzfrequenz zueinander in Beziehung gesetzt werden. Die Veränderungen der Blutdruckamplitude gestatten in gewissem Rahmen Rückschlüsse auf die für den Gesamtkreislauf besonders wichtige Größe des Herzminutenvolumens. Anderseits kommen im Verhalten der Herzfrequenz und der Pulsamplitude — viel mehr

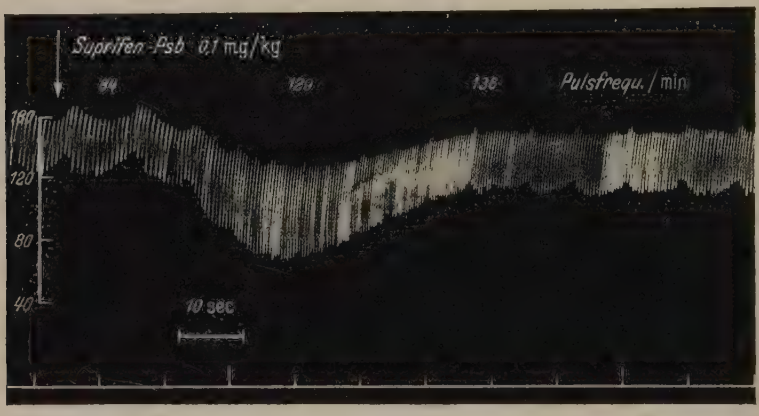


Abb. 1. Blutdruckwirkung von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb. Hund, 3,5 kg. Morphin-Evipan-Narkose.

als im diastolischen Blutdruck — neben den direkten auch reflektorische Wirkungen bzw. Gegenregulationen des Kreislaufs zum Ausdruck. Oft kennzeichnen Frequenz- und Amplitudenwirkung mehr den Kreislaufzustand des Versuchstiers als die geprüfte Verbindung, so daß die Werte aus verschiedenen Versuchen stark streuen. Am aufschlußreichsten war der Vergleich zweier in ausreichendem Abstand aufeinander folgender Injektionen am gleichen Tier, wobei die Dosis möglichst auf gleiche Senkung des diastolischen Drucks abgestimmt wurde.

A. Grundwirkungen der aralkylierten Sympathicomimetica, dargestellt am Suprifen-Psb.

Nach intravenöser Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb (Abb. 1) sinkt der Blutdruck ab, Puls und Atmung werden beschleunigt. Der systolische Druck fällt weniger als der diastolische, so daß die Amplitude sich etwa verdoppelt. Nach 30 sec ist die Wirkung maximal, anschließend steigt der diastolische Druck zunächst rasch und dann langsamer zur Ausgangshöhe, die nach etwa 25 min wieder erreicht wird. Die Blutdruckamplitude kehrt etwas früher zum Ausgangswert zurück.

Die Pulsfrequenz erreicht erst im wiederansteigenden Teil der Blutdruckkurve ihren Gipfel und bleibt ½ Std und länger beschleunigt.

Die Veränderung der Atmung beginnt nicht selten mit einer tiefen Inspiration und anschließender Pause, dann folgt eine Beschleunigung und Vertiefung der Atmung, die etwa 10 min anhält.

Bei einem Hund mit gutem Kreislauf betragen die Veränderungen im Durchschnitt:

Diastol. Druck mm Hg	Systol. Druck mm Hg	Amplitude mm Hg	Pulsfrequenz pro min	Atemfrequenz pro min
−46	−14	+32	+28	+7

Die Abweichungen werden bei der Besprechung der Teilgrößen aufgeführt.

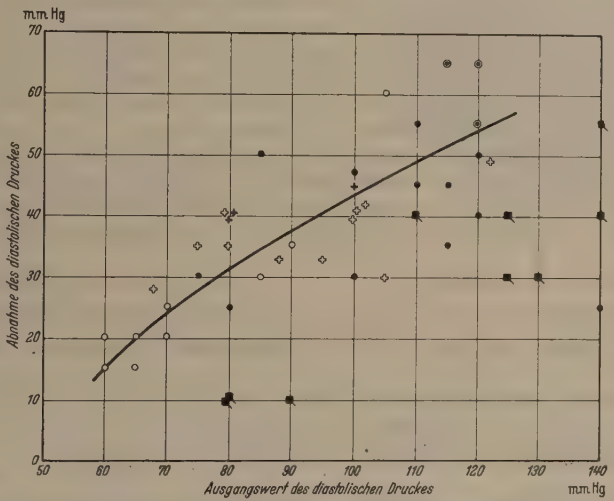


Abb. 2. Abhängigkeit der diastolischen Drucksenkung vom Ausgangswert, bei i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb. Zusammenstellung von 47 Einzelinjektionen aus Versuchen an Hunden und Katzen. Es bedeuten:

Hundeversuche:

- • Frühinjektionen (1.—3. Injekt.) } in Morphin-
- ○ spätere Injektionen } Evipan-Narkose
- ◉ Injektionen in Pernocton-Narkose
- ✦ Frühinjektionen (1.—3. Injekt.) } in Morphin-
- ✧ spätere Injektionen } Chloralose-Narkose

Katzenversuche:

- ▼ sämtliche Injektionen in Evipan-Narkose.

Eine deutliche Abweichung vom angedeuteten Kurvenverlauf ist nur für die Katzenversuche festzustellen.

1. Diastolischer Blutdruck.

Der Druckabfall ist weniger steil als nach einer Histamininjektion. Das Ausmaß der Drucksenkung ist verschieden; Abb. 2 zeigt eine Zusammenstellung von 47 Einzelinjektionen mit gleicher Dosierung, aufgetragen in Abhängigkeit vom Ausgangswert*.

* Zum Wilderschen „Ausgangswertgesetz" siehe Zipf[45].

Innerhalb der gleichen Tierart fällt der diastolische Blutdruck um so mehr ab, je höher er vor der Injektion war.

Darüber hinaus sind Zustand des Kreislaufs und Narkoseart anscheinend nicht von Bedeutung; die Injektionen zu späten Versuchsstadien häufen sich erwartungsgemäß bei niedrigen Ausgangswerten, fügen sich aber in den allgemeinen Kurvenverlauf ein.

Die Katzen reagieren — in Übereinstimmung mit Erfahrungen an alkylierten Adrenalinderivaten[32] — schwächer. Wenn die geringere Anzahl der Versuche es erlaubt, lassen sich die Werte durch eine nach rechts verlagerte Kurve verbinden.

Im wiederansteigenden Teil der Blutdruckkurve macht sich dagegen auch der Einfluß der Narkose bemerkbar, weil dann Kreislaufregulationen mit der Substanzwirkung interferieren. Beim nicht geschädigten Tier in Evipan- oder Pernoctonnarkose steigt der Druck zunächst innerhalb 30—40 sec rasch wieder an, dann biegt die Kurve in einen flacheren Schenkel um und erreicht nach 20—30 mn die alte Höhe. In Chloralose-Narkose ist der Anstieg steiler, so daß der Ausgangswert nach 1—2 min schon erreicht sein kann.

Je stärker der Kreislauf durch die Narkose oder durch lange Versuchsdauer geschädigt ist, desto flacher verläuft die Kurve und häufig erreicht sie — besonders bei Katzen — den Ausgangswert nicht mehr. Im Mittel kann die Wirkungsdauer einer i.v. Injektion von 0,1 mg/kg mit 25 min angegeben werden.

2. Blutdruckamplitude.

Beim narkotisierten Tier ist die Wirkung auf die Pulsamplitude ungleichmäßiger als beim wachen Hund oder Menschen. Die Werte

Tabelle 1. *Zum Verhalten der Blutdruckamplitude nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb.*

Tiere	Versuchs-Serie	Narkose	Mittelwerte			
			RR-Amplitude in mm Hg		Pulsfrequenz/min	
			Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung
Hunde	1 (THAUER)	meist Pernocton		+ 53		+ 19
	2*	Morphin-Evipan	35	+ 15	118	+ 37
	3	meist Morphin-Chloralose	44	∅	182	+ 36
Katzen	1* (THAUER)	Pernocton		+ 23		+ 36
	2	Evipan	28	+ 7	194	— 1

* Ausgewählte Injektionen bei gutem Kreislauf, also normalem systolischen und diastolischen Ausgangsdruck und nicht zu hoher Pulsfrequenz. — Die Ausgangswerte zu Serie 1 sind nicht mehr verfügbar.

streuen nicht nur im Einzelversuch stärker als es bei den übrigen Kreislaufgrößen der Fall ist, sondern auch zu verschiedenen Zeiten durchgeführte Versuchsreihen zeigen auffallende Abweichungen. Wie aus der Zusammenstellung in Tab. 1 hervorgeht, scheinen Ausgangsamplitude, Herzfrequenz und Narkose eine gewisse Bedeutung zu haben, eine sichere Beziehung läßt sich jedoch zu keiner dieser Größen herstellen. Man wird zusätzlich eine unterschiedliche Reaktionsweise der Tiere aus unbekannter Ursache annehmen müssen.

Beim wachen Karotisschlingenhund bewirken bereits kleine Dosen von 0,02—0,05 mg/kg Suprifen-Psb s.c. eine Vergrößerung der Pulsamplitude für 1 Std und länger (Abb. 3). Die Steigerung des Herzminutenvolumens ist beim wachen Organismus also wesentlich stärker und von längerer Dauer als in Narkose.

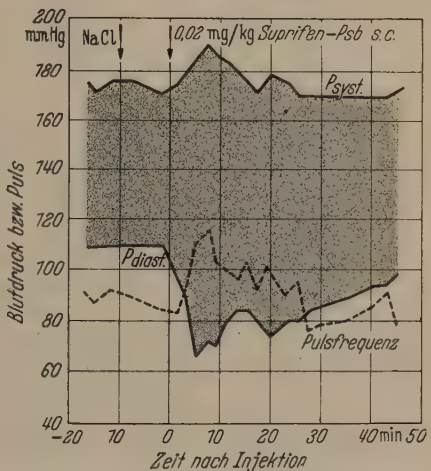


Abb. 3. Blutdruckwirkung von 0,02 mg/kg Suprifen-Psb s.c. beim wachen Hund. Zur Kontrolle (bei „NaCl") Injektion von 1 cm³ physiol. Kochsalzlösung. — Auskultatorische Messung an der Karotisschlinge nach VAN LEERSUM.

3. Systolischer Blutdruck.

Der systolische Blutdruck ist in seinem Verhalten uncharakteristisch, da er als Summe von diastolischem Druck und Pulsamplitude von diesen Varianten abhängig ist. Er sinkt zunächst mit dem diastolischen Druck ab, aber um einen geringeren Betrag. Wenn — bei gutem Kreislauf — die Senkung des diastolischen Blutdrucks rückgängig gemacht wird, solange die Amplitude noch vergrößert ist, steigt er vorübergehend über die Ausgangslage.

4. Pulsfrequenz.

Die Wirkung von Suprifen-Psb auf die Pulsfrequenz ist vom Ausgangswert, aber auch von äußeren Versuchsbedingungen abhängig. Eine Aufgliederung der bei 80 Einzelinjektionen von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb erhaltenen Frequenzzunahmen nach der angewendeten Narkoseart, dem Versuchsstadium und der Tierart erlaubt folgende Feststellungen:

Aus Abb. 4 geht hervor, daß zwischen der Steigerung der Pulsfrequenz und dem Ausgangswert eine annähernd lineare Beziehung derart besteht, daß die Wirkung mit höherer Ausgangsfrequenz abnimmt.

Abb. 5 zeigt, daß die Pulsfrequenz in Morphin-Evipan-Narkose weniger ansteigt als in Morphin-Chloralose-Narkose.

Ferner zeigt Abb. 5, daß bei Versuchen in Morphin-Evipan-Narkose der Zeitpunkt der Injektion von Bedeutung ist. Die Unterscheidung zwischen Früh- (1. bis 3.) und Spätinjektionen trägt einerseits der Narkosedauer, anderseits der zunehmenden Kreislaufbelastung durch wiederholte Injektionen Rechnung; die Grenze ist willkürlich gezogen.

Zwei Werte aus einem Versuch in Pernocton-Narkose fügen sich dem Kurvenverlauf der Abb. 4 ein, während bei 4 Injektionen in reiner Morphin-Narkose die Frequenz noch weniger anstieg als in Morphin-Evipan-Narkose.

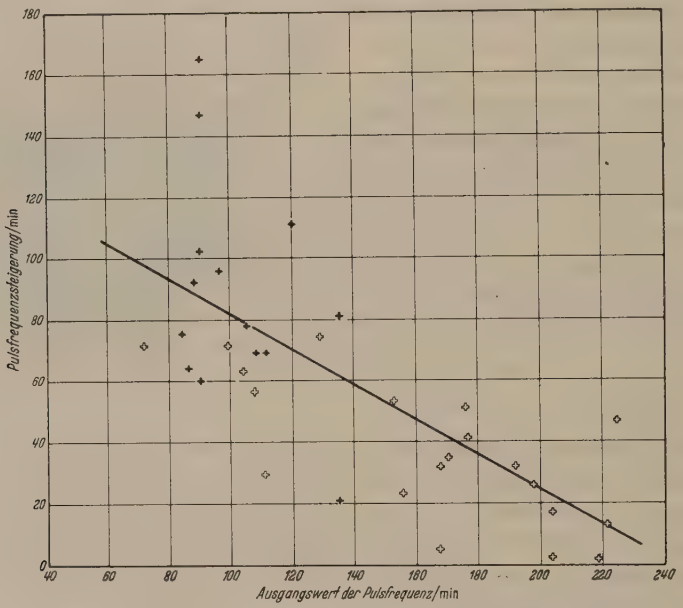


Abb. 4. Abhängigkeit der Pulsfrequenzsteigerung vom Ausgangswert. 34 Einzelinjektionen von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb i.v. bei Hunden in Morphin-Chloralose-Narkose.

\+ 1.—3. Injektionen
✣ spätere Injektionen

Der Kurvenabfall als solcher ist statistisch gesichert ($P < 0{,}001$)*. Zur Ermittlung der eingezeichneten Regressionsgeraden sind die Werte aus beiden Gruppen zusammengenommen.

* Herrn Dr. KODLIN möchte ich für die statistische Auswertung danken.

Bei Katzen steigt die Pulsfrequenz nicht höher als um 20 Schläge/min, häufiger sinkt sie ab; die Ausgangswerte lagen in diesen Fällen über 130/min.

Wie später gezeigt wird, ist die Pulsfrequenzsteigerung zum Teil reflektorisch bedingt. Die verstärkte Wirkung in Chloralose-Narkose läßt sich mit der bekannten allgemeinen Steigerung der Reflexerregbarkeit durch Chloralose in Zusammenhang bringen.

5. Verhältnis der Teilwirkungen.

Das gegenseitige Verhältnis der Teilwirkungen ändert sich mit der Dosierung, deren Einfluß deshalb an dieser Stelle angeführt wird. Wie aus der Dosis-Wirkungskurve (Abb. 6) hervorgeht, steht bei kleinen

Dosen die Frequenzwirkung im Vordergrund; mit steigender Dosis bleibt sie gegenüber der Senkung des diastolischen Blutdrucks zurück, der Quotient diastolische Drucksenkung : Pulsfrequenzsteigerung wird größer.

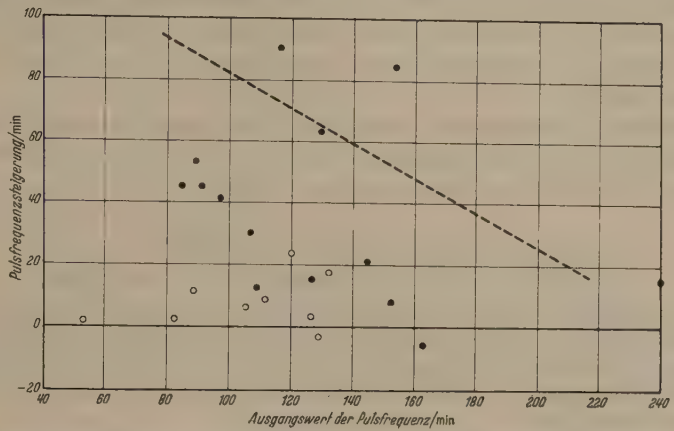


Abb. 5. Abhängigkeit der Pulsfrequenzsteigerung von der Narkose. Die Werte aus 1.—3. Injektionen von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb i.v. bei Hunden in Morphin-Evipan-Narkose sind in Abhängigkeit vom Ausgangswert aufgetragen (Punkte). Die Frequenz steigt weniger an als in Morphin-Chloralose-Narkose (die Regressionsgerade aus Abb. 4 ist zum Vergleich eingezeichnet). Der Unterschied ist statistisch knapp gesichert ($P < 0{,}05$, $> 0{,}02$).

Ferner ist der Frequenzanstieg bei 9 späteren Injektionen in Morphin-Evipan-Narkose eingetragen (Kreise). Die geringere Wirkung der Spätinjektionen ist signifikant ($P < 0{,}01$, $> 0{,}001$).

Über größere Bereiche hinweg ist die Aufstellung einer Dosis-Wirkungskurve schwierig, weil Blutdruckamplitude und Pulsfrequenz nach hohen Gaben nicht mehr zum Ausgangswert zurückkehren. Die Wirkung auf die Amplitude nimmt beim narkotisierten Hund nicht selten bei hohen Dosen wieder ab.

Wenn die Dosis-Wirkungskurve mit linearer Abszissenteilung (statt der logarithmischen in Abb. 6) aufgetragen wird, liegt die Dosis 0,1 mg/kg bereits im flacher werdenden Teil der Kurve. Wir haben diese Dosis Suprifen-Psb trotzdem bei unseren Versuchen als Standard gewählt, weil sie auch unter ungünstigen Verhältnissen stets deutliche Wirkungen hat.

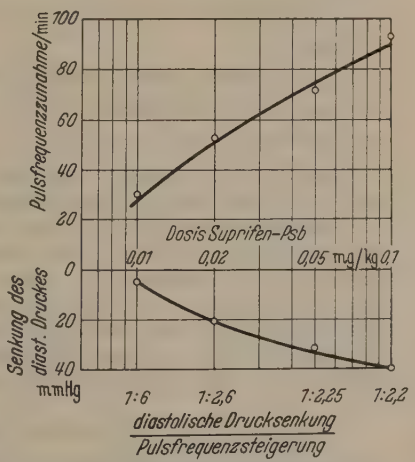


Abb. 6. Das Verhältnis der Teilwirkungen ändert sich mit steigender Dosis. Dosis-Wirkungskurve für Suprifen-Psb beim Hund in Morphin-Chloralose-Narkose.

Von allen aus der Blutdruckkurve erkennbaren Wirkungen ist die Senkung des diastolischen Blutdrucks die konstanteste, nur vom

Ausgangswert abhängig und nicht merklich beeinflußt durch die übrigen Kreislaufgrößen. Sie ist daher am besten geeignet, um die Wirkungsstärke verschiedener Präparate zu vergleichen. Von jeder unbekannten Substanz wurde die Gewichtsmenge in mg/kg bestimmt, die den diastolischen Druck um denselben Betrag senkt wie 0,1 mg/kg Suprifen-Psb. Der Quotient 0,1 dividiert durch diese Menge wird im folgenden als „Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb" bezeichnet.

Qualitative Unterschiede wurden bei der so ermittelten äquivalenten Dosis geprüft, um Täuschungen zu vermeiden, die sich durch den Verlauf der Dosis-Wirkungskurve ergeben können.

B. Variation der N-Nebenkette.

(Geprüft bei Aralkyl-Derivaten des nor-Suprifens.)

In der Literatur sind N-Benzylderivate vom Phenyläthylamin[16], p-oxy-Phenyläthylamin[1], 3,4-dioxy-Phenyläthylamin[16], nor-Ephedrin[6] und Benzedrin[15] beschrieben, die meist blutdrucksenkend wirken; ferner das N-phenyläthylderivat des Phenyläthylamins, welches nach HJORT[16] den Blutdruck stärker senkt als das homologe Benzylderivat.

Wir haben Suprifen-Derivate mit 1— 4gliedrigen geraden Kohlenwasserstoffketten zwischen der Aminogruppe und dem zweiten Benzolring sowie die zugehörigen Sekundärverbindungen geprüft. Die relativen Wirkungsstärken sind in einer senkrechten Spalte der Tab. 2 eingetragen. Aus der Tabelle läßt sich entnehmen, daß

1. mit Vergrößerung des Abstandes zwischen N-Atom und zweitem Ring von einem auf 2 C-Atome die Wirkungsstärke sprunghaft zunimmt,

2. bei einem Abstand von 3 C-Atomen bereits ein Optimum erreicht ist, und

3. eine zusätzliche Wirkungsverstärkung bei den zwei- und dreigliedrigen Ketten möglich ist durch Methylierung des mit dem Stickstoff verbundenen C-Atoms.

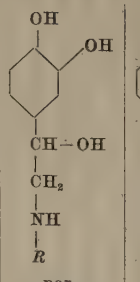
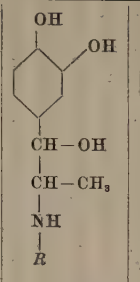
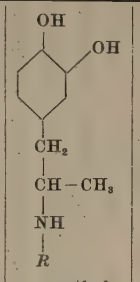
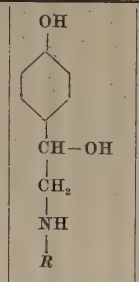
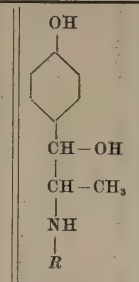
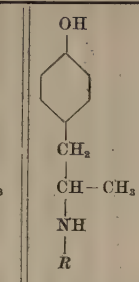
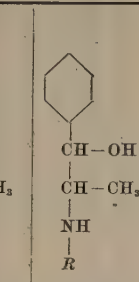
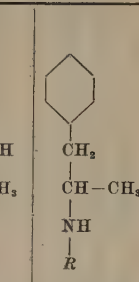
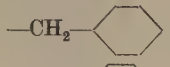
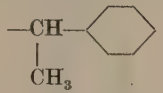
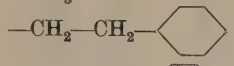
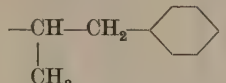
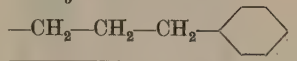
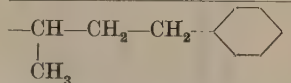
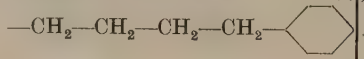
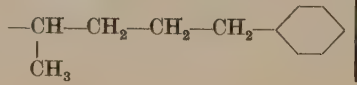
Vom Phenyl-sek. pentyl-nor-Suprifen wurden zwei isomere Verbindungen geprüft, von denen die leicht lösliche halb so wirksam ist wie die schwer lösliche.

Qualitativ wirken alle Suprifen-Derivate im Blutdruckversuch sehr ähnlich. Das n-propyl-Derivat hat vielleicht eine stärkere Wirkung auf die Herzfrequenz, während das Äthylderivat bei einigen Versuchen in Morphin-Evipan-Narkose unter relativ geringerer Blutdrucksenkung die Amplitude stärker und für längere Zeit steigerte. Zu einer gesicherten Aussage reicht die Zahl der Versuche nicht aus. Beim Menschen ergeben sich zwischen Phenyl-äthyl-nor-Suprifen und Suprifen-Psb nur quantitative Unterschiede.

C. Variation des Grundskeletts.

Mit Verwendung anderer sympathikomimetischer Grundkörper ändert sich das Verhältnis zwischen Blutdrucksenkung, Amplitudensteigerung und Frequenzbeschleunigung. Zur N-Substitution diente

gelten für stereoisomere Verbindungen, die sich in der räumlichen Anordnung des Aralkyl-Restes zum Grundskelett unterscheiden.

R =	 nor-Adrenalin-	 Corbasil-	 nor-methyl-Epinin-	 nor-Sympatol-	 nor-Suprifen-	 nor-Veritol-	 nor-Ephedrin-	 Benzedrin-
			sehr gering	sehr gering	0,02			
					0,01			
	>12	~12			0,3			
			>1,0		0,5			
	>30	~30	~1	<1,5	0,6			
	75 (50)	20 (1)	1,5	1,5	1,0	0,1	0,1	0,02
					0,2			
		2,5			0,1 (0,05)			

grundsätzlich die Psb-Gruppe. Die allgemeine Wirkungsstärke dieser Verbindungen findet sich in Tab. 2. Soweit andere Radikale mit kürzerer aliphatischer Kette zur Verwendung kamen, zeigten sie untereinander mit geringfügigen Abweichungen ein ähnliches Wirkungsverhältnis wie die analogen Suprifen-Derivate.

1. Verbindungen mit zwei phenolischen und einer alkoholischen Hydroxylgruppe.

Adrenalin-Psb (II) ist 75mal stärker als Suprifen-Psb und übertrifft damit wohl die allgemeine Wirkungsstärke des Arterenols; ein zahlenmäßiger Vergleich ist angesichts der entgegengesetzten Richtung der Blutdruckwirkung schlecht möglich. Das reine Racemat stand uns erst nach Abschluß der meisten Versuche zur Verfügung, die folgenden Angaben gelten deshalb für das etwas schwächere Stereoisomerengemisch (Adrenalin-Psb I).

Qualitativ unterscheidet sich Adrenalin-Psb in äquivalenter Dosierung (1—2 γ/kg) am stärksten von Suprifen-Psb:

Während die Wirkung von Suprifen-Psb auf den diastolischen Druck zunächst rasch und dann langsamer abklingt, so daß in der Kurve ein Knick entsteht, ist der Wiederanstieg bei Adrenalin-Psb flacher aber stetiger; die Ausgangslage wird etwas früher wieder erreicht (nach 10—15 min).

Die Blutdruckamplitude wird doppelt so stark vergrößert, besonders bei niedrigem Ausgangswert.

Der arterielle Mitteldruck sinkt infolgedessen weniger ab. Im Beginn der Wirkung und nach kleineren Dosen steigt er oft an, weil die Amplitudensteigerung dann die Senkung des diastolischen Drucks überwiegt.

Da Pulsfrequenz und Blutdruckamplitude — und damit auch der Mitteldruck — sich individuell verschieden verhalten, bilden die Mittelwerte aus sämtlichen Versuchen keine brauchbare Unterlage für den Vergleich zwischen Adrenalin-Psb und Suprifen-Psb. Deshalb wurden aus 14 Hundeversuchen je eine Injektion mit annähernd gleichem Ausgangswert für Pulsfrequenz und Mitteldruck ausgewählt und daraus die Mittelwerte errechnet. Die individuellen Variablen sind damit auf beide Gruppen gleich verteilt:

		Mittelwerte für			
		art. Mitteldruck in mm Hg		Pulsfrequenz/min	
		Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung
7 Injektionen	Suprifen-Psb 0,1 mg	117	— 35	112	+ 53
7 „	Adrenalin-Psb 1 γ	112	— 22	117	+ 75
7 „	Suprifen-Psb 0,1 mg	126	— 41	140	+ 44
7 „	Adrenalin-Psb 2 γ	120	— 33	140	+ 74
zus.: 14 „	Suprifen-Psb	121	— 38	126	+ 48
14 „	Adrenalin-Psb	115	— 28	129	+ 75

Adrenalin-Psb senkt den Mitteldruck weniger, *steigert* aber *die Pulsfrequenz um 50% mehr als Suprifen-Psb*. Die Pulsfrequenzsteigerung ist zufällig im Mittel bei 1 γ/kg und 2 γ/kg fast gleich, was sich durch die verschiedene Ausgangslage erklärt.

Außer Adrenalin-Psb wurden zwei Verbindungen mit kürzerer Nebenkette geprüft. Wie bei den Suprifen-Derivaten nimmt die Wirkungsstärke ab, qualitativ sind im Blutdruckversuch keine Unterschiede zu erkennen.

Die mit *Corbasil-Psb* erhaltenen Kurven sind bei entsprechender Dosierung nicht von Adrenalin-Psb-Kurven zu unterscheiden, auch in der Wirkungsdauer bestehen keine Abweichungen. Der große Wirkungsunterschied zwischen den Stereoisomeren (20:1) ist auffällig.

Das n-propyl-Derivat ist in Abweichung von den sonstigen Verhältnissen stärker als Corbasil-Psb, doch sind die Unterschiede bei Verwendung der sek.-butyl-Gruppe einerseits und der dreigliedrigen geraden oder verzweigten Ketten anderseits allgemein nicht groß. Deutlich ist wieder die Abschwächung mit dem Übergang zur sek.-pentyl-Gruppe.

2. Verbindungen mit zwei phenolischen Hydroxylgruppen:

Methylepinin-Psb hat gegenüber Corbasil-Psb, von dem es sich durch das Fehlen der alkoholischen Hydroxylgruppe unterscheidet, eine gut 10fach geringere Wirkungsstärke. Quantitativ und qualitativ schließt es sich eher an das Suprifen-Psb an, hat aber noch eine stärkere Wirkung auf die Pulsfrequenz. Die Amplitude bleibt nur wenige Minuten nach der Injektion vergrößert und nimmt dann sogar häufig ab, während die Herzaktion bis zu einer halben Stunde und länger beschleunigt ist.

Bei Hunden erhielt Thauer mit Methylepinin-Psb, Suprifen-Psb und Sympatol-Psb (siehe den folgenden Abschnitt) bei gewichtsgleicher Dosierung (je 0,1 mg/kg) folgende Mittelwerte:

Substanz	Veränderungen von					Wirkungsdauer, bezogen auf:	
	Diast. Druck mm Hg	Syst. Druck mm Hg	Puls-amplit. mm Hg	Puls-frequenz pro min	Atem-frequenz pro min	Diast. Druck (min.)	Puls-amplit. (min.)
Methylepinin-Psb	—70	— 1	+ 69	+ 51	+ 12	14	3
Suprifen-Psb	—54	— 3	+ 53	+ 19	+ 11	36	14
Sympatol-Psb	—70	+ 21	+ 89	+ 47	+ 12	57	47

Bei den untersuchten Homologen nimmt die Wirkungsstärke mit Verkürzung der Nebenkette ab. Qualitative Unterschiede treten nicht in Erscheinung (Thauer).

3. Verbindungen mit einer (p-ständigen) phenolischen und einer alkoholischen Hydroxylgruppe:

Sympatol-Psb unterscheidet sich chemisch vom Suprifen-Psb nur durch das Fehlen der Methylgruppe am C_2-Atom der Seitenkette. Wie

Methylepinin-Psb hat es eine 1½mal stärkere Wirkung auf den diastolischen Druck und die Pulsfrequenz und sogar die doppelte Wirkungsdauer. Auch in der Wirkung auf die Blutdruckamplitude ist Sympatol-Psb relativ stärker als Suprifen-Psb und Methylepinin-Psb, so daß der systolische Druck trotz Abfalls des diastolischen ansteigt.

Die Sympatol-Derivate mit kürzerer Nebenkette ordnen sich nach ihrer Wirkungsstärke ohne auffällige qualitative Unterschiede wie die entsprechenden Abkömmlinge der anderen Grundkörper.

Die zu Beginn besprochenen *Suprifen*-Derivate gehören gleichfalls in diese Gruppe.

4. Verbindungen mit einer phenolischen Hydroxylgruppe (Veritol-Derivate), einer alkoholischen Hydroxylgruppe (Ephedrin-Derivate) und die hydroxylfreie Verbindung (Benzedrin-Derivat).

Die Substanzen werden hier zusammengefaßt, weil sie sich im Blutdruckversuch kaum näher differenzieren ließen. Sie sind mindestens zehnfach schwächer als Suprifen-Psb. Obgleich das Kurvenbild bei hohen Dosen gewisse Unterschiede aufweist, ergibt sich bei der zahlenmäßigen Auswertung annähernd das gleiche Verhältnis der Teilwirkungen wie bei Suprifen-Psb.

Veritol-Psb wurde als Azetat untersucht, da das Hydrochlorid praktisch unlöslich ist. Die geringe Wirkungsstärke könnte dadurch vorgetäuscht sein, daß die Substanz durch Natriumchlorid ausgefällt wird.

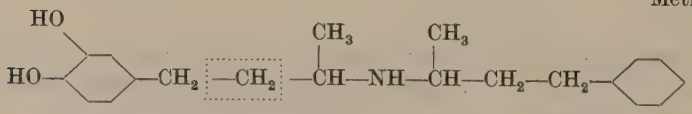
Vom *Ephedrin-Psb* wurden zwei Isomere untersucht, deren Wirkungsstärke sich wie 1,5:1 verhält.

D. Weitere Strukturveränderungen.

In dieser Gruppe werden Verbindungen zusammengefaßt, die sich an Methylepinin-Psb und Suprifen-Psb anschließen, sich aber durch zusätzliche Abänderungen des Grundskeletts unterscheiden.

Da diese Substanzen nur in wenigen Versuchen geprüft wurden, kann nur die allgemeine Wirkungsstärke angegeben werden. Qualitative Unterschiede waren in den geprüften Dosen nicht auffällig, können aber nicht ausgeschlossen werden.

1.) "*Sch 90 D*" Wirkungsstärke zu Methylepinin-Psb



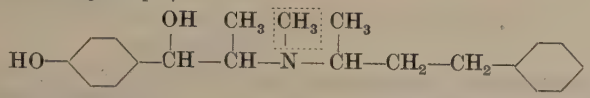
0,1

Das Präparat unterscheidet sich vom Methylepinin-Psb durch die Verlängerung der *Seitenkette* um eine Methylgruppe.

Seit den Untersuchungen von BARGER und DALE[3] ist anerkannt, daß die Struktur des Phenyläthylamins für die sympathikomimetische Wirkung optimal ist. HAUSCHILD[15] hat diese Feststellung dahingehend präzisiert, daß eine seitenständige Verzweigung nach dem Muster des Phenyl-isopropylamins nicht zu einer

Abschwächung führen muß, eine Vergrößerung des Abstandes zwischen Benzolring und Aminogruppe aber wie beim Sch 90 D stets die Wirkung vermindert.

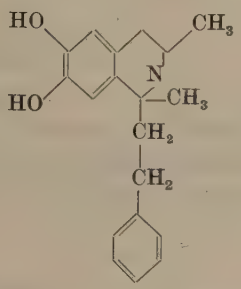
2. *N-Methyl-Suprifen-Psb*

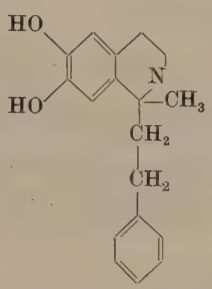


Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb: 0,3

Die Wirkung der pressorischen Sympathicomimetica Adrenalin, Ephedrin p-oxyphenyl-methylamin, und 1-Phenyl-2-methylaminopropan wird gleichfalls durch Umwandlung zum tertiären Amin abgeschwächt (Lit. s. [4]).

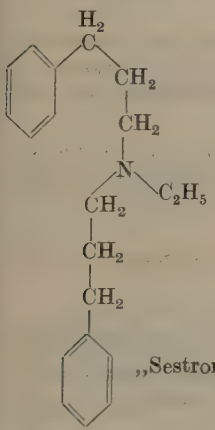
3. *Sch 27 F* und *Sch 26 F*





Sch 27 F ist vom Methylepinin-Psb abgeleitet zu denken durch Verknüpfung der Nebenkette mit dem Benzolkern; Sch 26 F ist das entsprechende Epinin-Derivat. Die Verbindungen erinnern in ihrer Struktur an das Papaverin. Bis zu einer Dosierung von 1,0 mg/kg fehlt ihnen praktisch jede Kreislaufwirkung (Thauer).

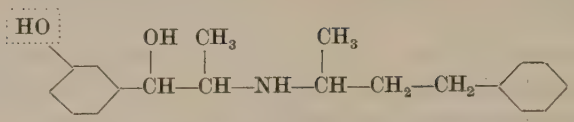
Auch das „Sestron" nimmt eine Mittelstellung zwischen dem Papaverin und den aralkylierten Sympathicomimetica ein. Das Präparat wurde von Külz[21, 22, 23] aus dem Papaverin durch Sprengung des Ringsystems entwickelt. Seiner spasmolytischen Wirkung wegen wird es klinisch angewendet; in höheren Dosen senkes beim Versuchstier den Blutdruck.



„Sestron"

Für die — gegenüber Suprifen-Psb — schwache Kreislaufwirkung sind die tertiäre Aminogruppe, der größere Abstand zwischen Aminogruppe und Benzolkern sowie das Fehlen von Hydroxylgruppen verantwortlich zu machen.

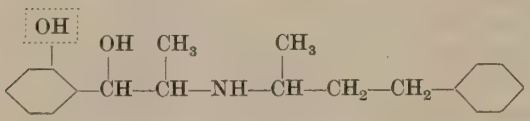
4. *meta-Suprifen-Psb*



Wirkungsstärke zu p-Suprifen-Psb: 0,3

Bei den blutdrucksteigernden Verbindungen der Sympatol-[25, 26] und oxy-Ephedringruppe[38] ist die phenolische OH-Gruppe dagegen in meta-Stellung wirksamer. Vielleicht wird durch die Position dieser Hydroxylgruppe weniger die allgemeine Wirkungsstärke berührt als das Verhältnis zwischen konstriktorischen und dilatatorischen Gefäßwirkungen.

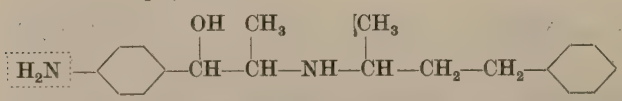
5. *ortho-Suprifen-Psb*



Wirkungsstärke zu p-Suprifen-Psb: 0,07

In Übereinstimmung mit der allgemeinen Erfahrung hat die Verbindung mit der ortho-ständigen Hydroxylgruppe von den drei Strukturisomeren die schwächste Wirkung.

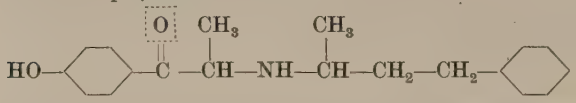
6. *Amino-Suprifen-Psb*



Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb: 0,2

Im allgemeinen vermindert eine Aminierung am Benzolring die Wirkungsstärke[4]. Einen direkten Vergleich zwischen p-oxy-Ephedrin und Ephetonal, der hier interessieren würde, haben wir in der Literatur nicht finden können.

7. *Keto-Suprifen-Psb*



Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb: 0,08—0,1

Auch bei den pressorischen Aminen schwächt die Oxydation der alkoholischen OH-Gruppe die Wirkung stark ab: Adrenalon ist 200mal weniger wirksam als Adrenalin, bei anderen Ausgangssubstanzen ist der Wirkungsverlust zum Teil geringer (Lit. s. [4]).

Die depressorische Wirkungsstärke des Isuprels (= Aludrin) wird durch den gleichen Eingriff auf weniger als $^1/_{1000}$ abgeschwächt[29], die des N-propyl-nor-Ephedrins anscheinend eher verstärkt[6].

8. Ferner wurden Verbindungen geprüft, deren alkoholische OH-Gruppe veräthert ist.

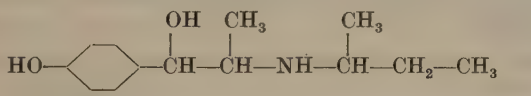
Bei Suprifen-Psb wird die Wirkungsstärke durch Verätherung abgeschwächt, bei Iso-Suprifen-Psb wenig verändert, und beim Benzyl-nor-Suprifen ist die Wirkung auf die Pulsfrequenz verstärkt.

Substanz	Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb
Suprifen-Psb	1
„ -Methyläther	~0,1
„ -Äthyläther	0,2
„ -n-butyläther	~0,1
Iso-Suprifen-Psb	0,13
„ -Methyläther	0,12
„ -Äthyläther	0,05—0,1
„ -n-butyläther	~0,1
Benzyl-nor-Suprifen	0,02
„ -Methyläther	0,025

E. Substitution mit rein aliphatischer Nebenkette.

Die folgenden Substanzen bieten die Möglichkeit, den Einfluß des zweiten Benzolringes isoliert zu prüfen; er hat je nach der Ausgangssubstanz verschiedene Bedeutung.

1. Die dem Suprifen-Psb homologe Verbindung ohne Phenylrest ist:

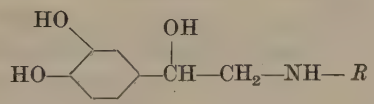


sek. butyl-nor-Suprifen

Bei qualitativ ähnlicher Wirkung ist die Substanz 50mal schwächer als Suprifen-Psb. Unter Berücksichtigung des geringeren Molekulargewichts verschiebt sich das Wirkungsverhältnis auf 1:65.

Therapeutisch ist es vielleicht von Bedeutung, daß in diesem Fall die Toxizität durch den zweiten Ring höchstens 5fach gesteigert wird.

2. Zum Vergleich mit Adrenalin-Psb wurden drei alkylierte Derivate herangezogen:



$R = -CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$ *n-butyl-nor-Adrenalin* (MNB)

$R = -CH(CH_3)-CH_2-CH_3$ *sek.butyl-nor-Adrenalin* (MSB)

$R = -C(CH_3)_3$ *tert.butyl-nor-Adrenalin* (MTB)

Auffallende qualitative Unterschiede zeigen die Präparate im Blutdruckversuch weder untereinander noch zu Adrenalin-Psb.

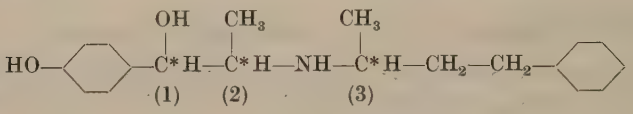
In der Wirkungsstärke verhält sich MNB:MSB:MTB wie 1:5:10 (nach VOGT[42]), und Adrenalin-Psb war in eigenen Versuchen etwa

gleichstark wie MTB. Wenn man auf diesem indirekten Wege Adrenalin-Psb und MSB vergleichen darf, ergibt sich, daß die Wirkung von MSB durch den Phenylrest etwa verdoppelt wird.

3. Eine weitere Vergleichsmöglichkeit bestände zwischen Butylsympatol und Sympatol-Psb, doch handelt es sich beim Sympatol-Psb um eine sekundäre und beim Butylsympatol um eine n-Butyl-Gruppe. Nach unseren vorläufigen Versuchsergebnissen ist Sympatol-Psb etwa 20mal stärker wirksam.

F. Stereoisomere von Suprifen-Psb.

Suprifen-Psb hat drei asymmetrische Kohlenstoffatome (C*):



Grund- und Pseudoreihe unterscheiden sich durch cis-trans-Isomerie zwischen $C^*_{(1)}$ und $C^*_{(2)}$; sie gliedern sich durch verschiedene Stellung der Methylgruppe an $C^*_{(3)}$ in vier stereoisomere Racemate auf, die getrennt untersucht wurden:

	Substanz	Wirkungsstärke zu Suprifen-Psb
Grundreihe	Suprifen-Psb	1
	Iso-Suprifen-Psb	0,13
Pseudoreihe	Pseudo-Suprifen-Psb	0,2
	Pseudo-Iso-Suprifen-Psb . .	0,1

Qualitativ sind die Isomeren in der Kreislaufwirkung gleich, in der Blutzuckerwirkung zeigen sich Unterschiede.

Von den 8 optisch aktiven Komponenten wurde bisher nur eine Molekularverbindung von d-Suprifen-Psb und d-Iso-Suprifen-Psb (im Verhältnis 1:2) isoliert, die $^1/_3$ der Wirkungsstärke von Suprifen-Psb besitzt.

II. Versuche an Menschen.

Es wurden 110 Versuche an kreislaufgesunden jungen Leuten, meist Studenten, ausgewertet. Wir injizierten die Substanzen subkutan oder gaben sie in Wasser gelöst peroral. Der Blutdruck wurde im Sitzen nach KOROTKOFF gemessen. Die Substanzmengen sind bei den Versuchen am Menschen nicht pro Kilogramm, sondern pro dosi angegeben.

1. *Suprifen-Psb.*

Im Gegensatz zum narkotisierten Versuchstier fällt beim sitzenden Menschen der arterielle Mitteldruck kaum ab, weil die Pulsamplitude viel stärker zunimmt als der diastolische Blutdruck sinkt; der systolische

Druck steigt an. Durch 10 mg s.c. oder 30 mg per os wird die Pulsamplitude etwa verdoppelt und die Herzfrequenz um 15—20 Schläge pro Minute beschleunigt (Abb. 7).

Die Wirkung beginnt bei s.c. Injektion nach 10 min. Vom Magendarmkanal aus erfolgt die Resorption fast in der gleichen Zeit und ebenso sicher. Das Wirkungsmaximum wird nach weiteren 10 min erreicht, bei peroraler Gabe etwas später. Die Pulsfrequenz sinkt häufig schon wieder ab, bevor der diastolische Druck am Tiefpunkt angelangt ist.

Im Bereich therapeutischer Einzeldosen (2,5—10 mg s.c.) bleibt das Verhältnis zwischen den Teilwirkungen (auf diastolischen Druck, Amplitude und Frequenz) annähernd konstant. Bei graphischer Auftragung der Teilwirkungen — unter Benutzung einer logarithmisch geteilten Abszisse für die Dosis — lassen sich die Werte für die Wirkungsstärke und die Wirkungsdauer durch gerade Linien verbinden. 30 mg peroral haben die gleiche Wirkungsstärke, aber kürzere Wirkungsdauer als die entsprechende s.c.-Injektion von 10 mg.

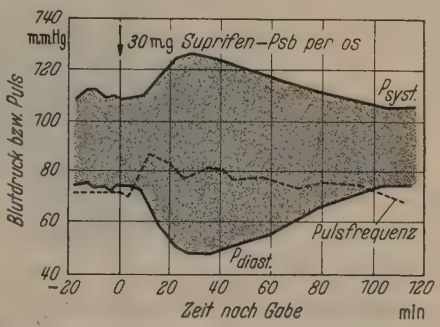


Abb. 7. Blutdruckwirkung von 30 mg Suprifen-Psb per os bei einem sitzenden Menschen. Die Wirkung beginnt schon nach 10 min.

Kreislauflabile geben öfters Nebenwirkungen an, wie nervöse Unruhe, Händezittern und besonders Herzklopfen. Das Herzklopfen ist nicht allein durch die Frequenzzunahme bedingt; wenn wir die Versuchsperson aufstehen ließen, konnten wir öfters beobachten, daß die subjektive Empfindung unter weiterer Zunahme der Pulsfrequenz plötzlich nachließ. Anscheinend ist die veränderte Abstimmung zwischen Herzfrequenz und Schlagvolumen ursächlich beteiligt.

Bei bettlägerigen Patienten, aber auch bei liegenden Gesunden ist die Amplitudenwirkung weniger ausgeprägt, so daß der systolische und der Mitteldruck häufig absinken. Ein stärkerer Abfall findet sich bei Hypertonikern, bei denen eine Drucksenkung von 10—20 mm Hg die akute Substanzwirkung stunden- und tagelang überdauern kann[35].

2. *Phenyläthyl-nor-Suprifen.*

Die Substanz wurde beim Menschen geprüft als Vertreter der vom Suprifen-Psb abgeleiteten Verbindungen mit verkürzter Nebenkette. In Übereinstimmung mit den Tierversuchen ist das Präparat dreifach schwächer. Die Dosiswirkungskurven für den diastolischen Blutdruck, Pulsamplitude und Herzfrequenz gleichen denen von Suprifen-Psb, sie

sind nur in einen höheren Dosisbereich verschoben. Dies bestätigt die aus den Tierversuchen gewonnene Erfahrung, daß bei einer Verkürzung der Nebenkette keine wesentlichen qualitativen Veränderungen der Wirkung eintreten.

3. *Adrenalin-Psb.*

0,2 mg Adrenalin-Psb s.c. oder 5 mg peroral vergrößern die Pulsamplitude auf fast das dreifache (Abb. 8). Obwohl die Herzfrequenz gleichzeitig um etwa 40 Schläge/min gesteigert wird, treten beim Gesunden keine stärkeren Nebenwirkungen auf. Bei Kreislaufleiden ist

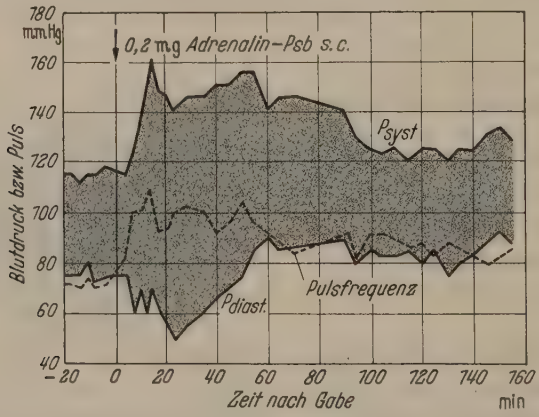


Abb. 8. Blutdruckwirkung von 0,2 mg Adrenalin-Psb s.c. beim Menschen.

die Belastung des Herzens erheblich, zumal die Wirkung infolge sehr schneller Resorption massiv einsetzt. Bei einem Hypertoniker sahen wir 5 min nach peroraler Gabe von 3,5 mg Adrenalin-Psb einen Druckabfall um 40 mm Hg mit stenokardischen Beschwerden. Durch protrahierte Gabe kleiner Dosen lassen sich Zwischenfälle vermeiden. Für klinische Zwecke wurde vorerst das milder wirkende Suprifen-Psb vorgezogen, obwohl nach den tierexperimentellen Ergebnissen von Adrenalin-Psb eine stärkere Förderung der peripheren Durchblutung zu erwarten ist. Die Anwendung von Adrenalin-Psb erscheint uns aussichtsreich bei den mit einer Zentralisation des Kreislaufs und Verminderung des Herzminutenvolumens einhergehenden Formen des Präkollaps:

Abb. 9 zeigt die Blutdruckkurve einer Patientin nach einer Gallenblasen-Exstirpation; die Patientin war noch nicht aus der Äthernarkose erwacht. Der Kreislauf wies die Zeichen des Präkollaps (Spannungskollaps nach DUESBERG[9]) auf: eine auf 45% (des Zustandes vor der Operation) verkleinerte Blutdruckamplitude, unveränderten Mitteldruck, Steigerung der Herzfrequenz auf 100/min und kaum tastbaren Radialispuls. Nach s.c.-Injektion von 0,1 mg Adrenalin-Psb vergrößerte

sich die Pulsamplitude von 18 auf 40 mm Hg; 1½ Std nach der Jnjektion lag sie noch über dem Ausgangswert. Die Pulsfrequenz stieg vorübergehend auf 120 pro min und unterschritt nach 75 min die Ausgangsfrequenz.

In den bisherigen Fällen einer Anwendung bei zentralisiertem Kreislauf fiel der Mitteldruck nicht ab; Adrenalin-Psb übertrifft anscheinend die anderen Substanzen in der Wirkung auf ein vermindertes Herzminutenvolumen.

4. *Corbasil-Psb* hat — bei doppelter Dosis — beim Menschen eine ähnliche Blutdruckwirkung wie Adrenalin-Psb.

5. *Methylepinin-Psb* beeinflußt die Blutdruckamplitude beim Menschen — wie im Tierversuch — für kürzere Zeit als Suprifen-Psb; häufig

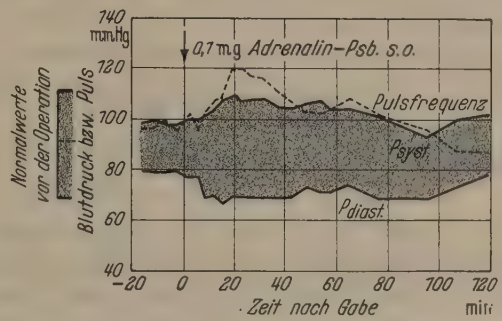


Abb. 9. Wirkung von 0,1 mg Adrenalin-Psb s.c. bei zentralisiertem Kreislauf. Nähere Angaben im Text.

folgt eine negative Nachphase. Die Herzfrequenz steigt stärker an als bei Suprifen-Psb.

6. *Sympatol-Psb.*

Das aralkylierte Sympatolderivat zeichnet sich auch beim Menschen durch besonders lange Wirkungsdauer aus. Diesem Vorzug stehen erhebliche Dosierungsschwierigkeiten gegenüber. Die gleiche Dosis, die bei einer Versuchsperson wirkungslos bleibt, macht bei anderen bereits unangenehme Nebenerscheinungen: motorische Unruhe, Übelkeit oder Heißhungergefühl, sehr lange anhaltende Tachykardie und in höheren Dosen stenokardische Beschwerden, so daß wir das Präparat wieder verlassen haben.

7. *Veritol-Psb* (als Azetat) war in der Dosierung 50 mg per os wirkungslos (siehe S. 296).

8. Bei *Ephedrin-Psb* (100 mg peroral) fiel ein verzögerter Eintritt der Wirkung auf, sonst entsprachen die Beobachtungen denen bei peroraler Gabe von 10 mg Suprifen-Psb.

9. 50 mg *Benzedrin-Psb* per os bewirken eine geringe Vergrößerung der Pulsamplitude. Zentrale Wirkungen traten bei dieser Dosierung nicht auf, offenbar werden sie durch die Aralkylierung erheblich abgeschwächt oder sogar aufgehoben.

III. Versuche zum Wirkungsmechanismus.
(Besonders von Suprifen-Psb.)

Die Auswertung dieser Versuche ist durch den Umstand erschwert, daß sich infolge des notwendigen Eingriffs bzw. der inzwischen verstrichenen Zeit oft die Ausgangslage ändert. Besonders das Verhalten der Blutdruckamplitude und der Pulsfrequenz ist vielfach nicht eindeutig.

A. Einfluß der nervösen Regulation.

Tab. 3 zeigt die Wirkung von 0,1 mg/kg Methylepinin-Psb vor und nach schrittweiser Ausschaltung der presso- und chemosensiblen Nerven der Karotissinus und des Aortenbogens. Die Beeinflussung des diastolischen Druckes ist unverändert, aber die Wirkung auf die Blutdruckamplitude und die Pulsfrequenz nimmt ab. Nach völliger „Entzügelung" des Herzens kann die Amplitude sogar kleiner werden.

Tabelle 3. *Wirkung von Methylepinin-Psb nach Ausschaltung von Karotis-Sinus und Vago-Depressor (nach* THAUER*).*
Hund, Pernocton-Narkose; Methylepinin-Psb 0,1 mg/kg i.v.

	Diast. Druck mm Hg		Pulsamplit. mm Hg		Herzfrequenz pro min		Wirkungsdauer, bezogen auf	
	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung	P_d (Min.)	Δ_p (Min.)
Vor Entzügelung .	149	— 58	55	+ 31	126	+ 42	2	2
Nach Karotis-Unterbindung . .	177	— 78	63	+ 13	138	+ 54	>30	33
Nach Vagus-Durchschneidung	119	— 60	56	— 15	126	+ 24	3	>30

Die beiderseitige Exstirpation des Ganglion stellatum hat einen ähnlichen Einfluß wie die Ausschaltung der Pressorezeptoren: Die Pulsfrequenz wird nur mehr um einen Bruchteil des vorausgegangenen Kontrollwerts gesteigert, während die Wirkung auf den diastolischen Blutdruck innerhalb der Streuungsbreite unverändert ist. Die Dauer der Drucksenkung wird durch den Ausfall der Regulation meist verlängert. Die Blutdruckamplitude verhielt sich in diesen Versuchen nicht eindeutig.

Tabelle 4. *Wirkung von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb vor und nach Entfernung des Ganglion stellatum bds. und Vagusdurchschneidung. Alleinige Entfernung des Ganglions hat in anderen Versuchen den gleichen Einfluß.*

	Diast. Druck mm Hg		Pulsamplit. mm Hg		Hezfrequenz pro min		Wirkungsdauer, bezogen auf	
	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung	P_d (Min.)	Δ_p (Min.)
1. Injektion . . .	120	— 50	40	+ 20	84	+ 45	20	20
2. Injektion . . .	110	— 45	40	+ 15	88	+ 53	2	15
3. Injektion . . .	110	— 55	30	+ 25	96	+ 15	20	20

Hund, 3,5 kg, Morphin-Evipan-Narkose. Der Eingriff erfolgte zwischen der 2. und 3. Injektion.

Da die Herzfrequenzwirkung von der Narkoseart und unter Umständen von der Versuchsdauer abhängig ist, haben wir in Morphin-Chloralosenarkose nur den Karotissinus abgeklemmt und die Kontrollinjektion als Zweitinjektion vorgenommen. Allein durch Karotisabklemmung wird die Herzfrequenzwirkung von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb um die Hälfte vermindert (Hund, 4,5 kg):

	Herzfrequenz	
	Ausgangswert	Steigerung
Erstinjektion bei abgeklemmten Karotiden . . .	84/min	+ 57
Kontrollinjektion 30 min später bei offenen Karotiden	90/min	+ 102

Am denervierten Herzlungenpräparat hat Suprifen-Psb eine sehr geringe Frequenzwirkung. Das Herzminutenvolumen bleibt unverändert oder nimmt gering zu (Gollwitzer-Meier[13]).

B. Pharmakologische Wechselwirkungen.

1. Adrenalin nach Suprifen-Psb.

Wie Abb. 10 zeigt, kann die Adrenalin-Blutdrucksteigerung durch eine vorausgegangene Injektion von Suprifen-Psb abgeschwächt werden. Die Dauer der Adrenalinwirkung wird nicht verändert, aber der steile Gipfel in der Kurve fehlt.

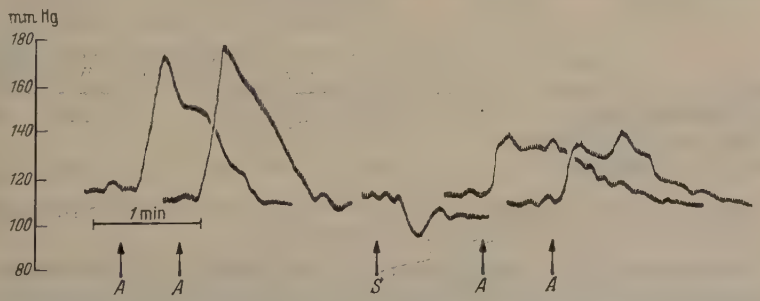


Abb. 10. Einfluß von Suprifen-Psb auf die Blutdruckwirkung des Adrenalins (arterieller Mitteldruck). A: Adrenalin 2 γ/kg i.v. S: Suprifen-Psb 0,1 mg/kg i.v. Hund, 10 kg, Morphin-Chloralose-Narkose.

Diese „statische" Wirkung von Suprifen-Psb gegenüber Adrenalin ist nur dann deutlich ausgeprägt, wenn das Versuchstier durch künstliche Wärmezufuhr auf normaler Körpertemperatur gehalten wird. Unterkühlte Tiere zeigen auf Adrenalin eine Dilatation peripherer Gefäße (Rein[37]); bei ihnen ist die Adrenalinkurve nach unseren Erfahrungen ohnehin flacher, meist zweigipflig, und sie wird durch eine vorausgegangene Injektion von Suprifen-Psb nicht deutlich verändert.

Suprifen-Psb besitzt also (ähnlich wie andere Bisphenylalkylamine[20]) eine gewisse antagonistische Wirkung gegenüber Adrenalin, die aber nicht ausreichend ist, um etwa die gefäßerweiternde Wirkung von Suprifen-Psb als sympathikolytischen Effekt zu deuten. Unter

Versuchsbedingungen, die praktisch nur die blutdrucksteigernde und nicht die inhibitorische Wirkung des Adrenalins zur Auswirkung kommen lassen (tonusloses Gefäßsystem bei paralytischem Blutdruck), setzt sich die Adrenalinwirkung sogar gegen die gleichzeitige Injektion der 10-fachen Menge Suprifen-Psb fast ungeschwächt durch, wie aus den folgenden Daten hervorgeht:

	Diastol. Druck mm Hg		Systol. Druck mm Hg	
	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung
Adrenalin 0,01 mg/kg	35	+ 45	70	+ 78
Adrenalin 0,01 mg/kg + Suprifen-Psb 0,1 mg/kg i.v. in der Mischspritze . .	35	+ 35	67	+ 68

2. Sympathicolytica.

Durch Vorbehandlung mit einem Sympathicolyticum (in einer zur Adrenalinumkehr ausreichenden Dosierung) wird die blutdrucksenkende Wirkung von Suprifen-Psb vielleicht etwas verlängert, aber weder abgeschwächt noch wesentlich verstärkt. Über das Verhalten der Blutdruckamplitude läßt sich nichts aussagen, weil die zu diesen Versuchen verwendeten Tiere eine große Ausgangsamplitude hatten und daher ohnehin auf Suprifen-Psb mit einer geringen Abnahme reagierten. Dafür ein Beispiel:

	Diast. Druck mm Hg		Pulsamplit. mm Hg		Herzfrequenz pro min	
	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung	Ausg.-Wert	Änderung
Suprifen-Psb 0,1 mg/kg	85	— 30	57	— 7	130	+ 26
Suprifen-Psb 0,1 mg/kg nach 20 mg/kg Dibenamin	85	— 30	65	— 5	189	+ 18

Das Tier (Hund, 8 kg, Morphin-Evipan-Narkose) zeigte nach der Dibenamin-Infusion auf Adrenalin die typische Umkehr-Reaktion.

Dagegen kann die Blutdruckwirkung von Suprifen-Psb durch *kleine* Ergotamindosen (etwa 0,05 mg/kg) in eine Blutdrucksteigerung umgekehrt werden (Abb. 11). Nach TAINTER und Mitarbeiter[40, 27] wird auch die depressorische Wirkung des Aludrins nach kleinen Ergotamin- oder Ergotoxingaben umgekehrt und die Adrenalinwirkung verstärkt, in kleinen Dosen haben also die Mutterkornalkaloide einen der bekannten Umkehrreaktion entgegengesetzten Effekt. Der Mechanismus ist noch ungeklärt.

3. Kokain.

Durch Kokain (20 mg/kg s.c.) wird die blutdrucksenkende Wirkung von Suprifen-Psb vielleicht etwas verstärkt, doch sind die Werte nicht exakt vergleichbar, da sich die Ausgangslage geändert hatte.

4. Antihistaminica.

„Avil" (Hoechst) hat in einer Dosierung, die die Blutdruckwirkung des Histamins auf weniger als $^1/_3$ vermindert, keinen Einfluß auf die Wirkung von Suprifen-Psb (Abb. 12). Gleichlautende Ergebnisse wurden mit „Antistin" (Ciba) erhalten.

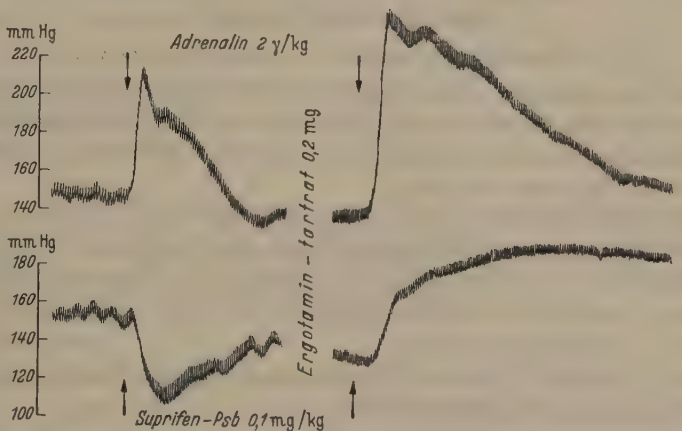


Abb. 11. Verstärkung der Adrenalinwirkung und Umkehr der Blutdruckwirkung von Suprifen-Psb durch eine kleine Dosis Ergotamin. Hund, 4 kg, Morphin-Chloralose-Narkose.

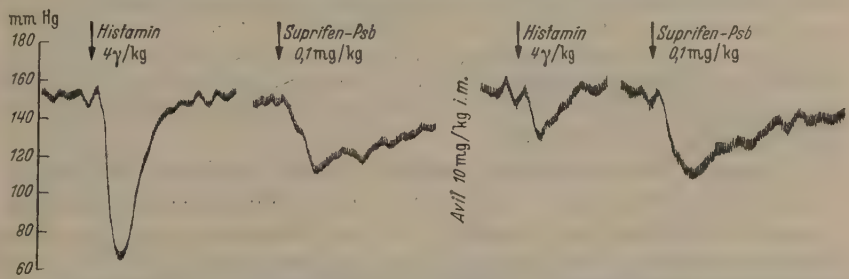


Abb. 12. Einfluß eines Antihistaminikum („Avil" Hoechst) auf die Blutdruckwirkung von Histamin und Suprifen-Psb. Hund, 4,5 kg, Morphin-Chloralose-Narkose.

5. Atropin.

Durch 2—4 mg/kg Atropin. sulf. wird die blutdrucksenkende Wirkung von Suprifen-Psb nicht abgeschwächt.

6. Wiederholte Gaben von Suprifen-Psb.

Die blutdrucksenkende Wirkung der aralkylierten Sympathicomimetica wird durch eine vorangegangene Injektion des gleichen Präparats oder eines anderen Mittels aus dieser Reihe weder verstärkt noch vermindert. Überhaupt werden blutdrucksenkende Wirkungen sympathicomimetischer Substanzen im allgemeinen nicht abgeschwächt[44], und nur durch besondere Kunstgriffe läßt sich ein Wirkungsverlust oder eine Umkehr nach Art einer tachyphylaktischen Reaktion herbeiführen[7].

Dagegen kann die Wirkung auf die Pulsfrequenz nach wiederholten Injektionen isoliert nachlassen. Die Abhängigkeit dieser Erscheinung vom Narkotikum spricht dafür, daß es sich nicht um eine spezifische Substanzwirkung handelt, sondern um eine Insuffizienz des Reflexmechanismus.

Besprechung der Ergebnisse.

A. Chemische Konstitution und Blutdruckwirkung.

Die von uns untersuchten aralkylierten Sympathicomimetica senken ausnahmslos bei jeder Dosierung den Blutdruck, das heißt die *Richtung* der Blutdruckwirkung ist durch die „Beschwerung" der Aminogruppe mit dem Phenylrest festgelegt.

Die Wirkungs*stärke* nimmt innerhalb der homologen Reihen mit der Verlängerung des aliphatischen Teils der Nebenkette bis zu einem Optimum zu, und zwar stets in annähernd der gleichen Reihenfolge wie die depressorische Wirkungsstärke der rein aliphatisch substituierten Sympathicomimetica.

Nach KONZETT[19] (ergänzt durch Angaben von VOGT[42]) lautet die Reihenfolge in der Adrenalingruppe:

methyl-$<$ äthyl-$<$ n-propyl-$<$ isopropyl- $<$ isobutyl-$<$ n-butyl-$<$ sek. butyl-$<$ tert. butyl- *-nor-Adrenalin*

MARSH, PELLETIER und ROSS[32] geben eine etwas abweichende Reihenfolge an: methyl-$<$ n-propyl-$<$ äthyl-$<$ sek. butyl-$<$ isopropyl-$<$ tert. butyl- *nor-Adrenalin.*

In der Sympatol- und Adrianol-Reihe wirken nach UNNA[41] die methyl- und äthyl-Derivate blutdrucksteigernd, das propyl-Derivat verändert den Blutdruck nur wenig, und das n-butyl-Derivat wirkt depressorisch. Ähnlich liegen die Verhältnisse in der Ephedrin-Gruppe[6].

In unserer Substanzreihe ist auffällig, daß die Wirkung des Phenyläthyl-nor-Suprifens durch Substitution einer Methylgruppe am α-C-Atom der N-Nebenkette verstärkt, die des Benzyl-nor-Suprifens aber durch Methylierung am gleichen Atom abgeschwächt wird.

Der Wirkungs*charakter* unserer Substanzen ist, soweit überhaupt im Blutdruckversuch Unterschiede festzustellen sind, durch die Struktur des Grundskeletts bestimmt. So haben z. B. die Brenzkatechinderivate ähnlich wie die pressorischen Stammkörper die stärkste Wirkung auf die Herzfrequenz. Die von den blutdrucksteigernden Verbindungen her bekannten Zusammenhänge zwischen Struktur des Grundskeletts und Wirkungsstärke sind mit wenigen Ausnahmen bei den aralkylierten Derivaten wiederzufinden.

Die Wirkungs*dauer* ist bei den aralkylierten Derivaten erheblich länger als bei den pressorischen Stammkörpern. Die Brenzkatechinderivate stehen den Stoffen mit nur einer phenolischen OH-Gruppe wenig nach, und die Äthanol-Derivate sind nicht kürzer wirksam als die Propanol-Abkömmlinge.

Alle geprüften Substanzen sind peroral wirksam. Die Adrenalin- und Corbasil-Abkömmlinge müssen bei peroraler Gabe 20fach, die übrigen 3fach höher dosiert werden als bei s.c. oder i.m. Injektion. Anscheinend wird der Abbau im Blut bzw. Gewebe sowie die Zerstörung bei der Magen-Darm-Passage durch den Aralkyl-Rest gehemmt.

In vitro werden Adrenalin-Psb und Corbasil-Psb etwa in der gleichen Zeit wie eine ebenso stark verdünnte Adrenalinlösung über rotgefärbte Zwischenstufen zu unwirksamen Produkten abgebaut. Durch Luftabschluß und geeignete Zusätze lassen sich die Lösungen stabilisieren. Methylepinin-Psb verfärbt sich gleichfalls, wird aber nicht so schnell unwirksam. Die übrigen Substanzen sind auch verdünnt in vitro haltbar.

B. Zum Wirkungsmechanismus von Suprifen-Psb.

Zur abschließenden pharmakologischen Beurteilung der aralkylierten Sympathicomimetica müssen noch andere Versuchsobjekte berücksichtigt werden, doch bieten die Blutdruckversuche bereits einige Hinweise.

1. Herzfrequenz.

Die Frequenzwirkung von Suprifen-Psb wird durch Ausschaltung presso- und chemosensibler Rezeptoren oder sympathischer zum Herzen führender Bahnen stark herabgesetzt, und im Gegensatz zur Blutdruckwirkung ist sie abhängig von der Art der Narkose. Beides weist darauf hin, daß sie überwiegend reflektorisch ausgelöst ist.

Ferner spricht für einen indirekten Mechanismus, daß die Pulsbeschleunigung später einsetzt als die anderen aus der Blutdruckkurve erkennbaren Wirkungen.

Beim Herz-Lungen-Präparat wird die Frequenz nur wenig beeinflußt[13].

Für die übrigen Substanzen ist der Mechanismus der Herzfrequenzwirkung nicht untersucht. Bei Adrenalin-Psb z. B. darf man erwarten, daß die Frequenzsteigerung zu einem erheblichen Teil durch direkten Angriff der Substanz am Herzen hervorgerufen ist.

2. Pulsamplitude.

Die Wirkung von Suprifen-Psb auf die Pulsamplitude wird ebenfalls durch Ausschaltung der Pressoregulation beeinträchtigt. Neben reflektorischen Einflüssen dürften aber auch andere Faktoren, wie der Füllungszustand der Blutspeicher, für das Ausmaß der Amplitudensteigerung von Bedeutung sein.

Die Analyse der Pulskurven nach der Methode von Wezler-Böger ergibt, daß die Vergrößerung der Blutdruckamplitude einhergeht mit einer Zunahme des Schlagvolumens und Abnahme der Pulswellengeschwindigkeit, des peripheren und meist auch des elastischen Widerstandes (Wezler; Feldmann; Rössel: mündl. Mitteilungen).

3. Diastolischer Blutdruck.

Da Herzfrequenz und Schlagvolumen durch Suprifen-Psb erhöht und anderseits die Blutspeicher entleert werden, kann die Blutdruck-

senkung nur durch periphere Widerstandsabnahme zustande kommen. Wie Durchblutungsmessungen bei Tier und Mensch zeigen, werden die peripheren Gefäße stark erweitert.

Die Blutdrucksenkung wird weder durch Antihistaminica noch durch Atropin verhindert, kann also nicht histaminartig oder cholinergisch sein. Ein sympathikolytischer Mechanismus ist gleichfalls auszuschließen, da die zwar nachweisbare sympathikolytische Wirkung zu schwach ist, um die Vasodilatation zu erklären.

Vielmehr sprechen die Versuchsergebnisse dafür, daß die Gefäßwirkung von Suprifen-Psb ein inhibitorischer, sympathikomimetischer Effekt ist. Besser als am Gefäßsystem läßt sich an isolierten Organen zeigen, daß alle Sympathicomimetica an der glatten Muskulatur sowohl exzitatorische wie auch inhibitorische Wirkungen haben.

Während beim Arterenol praktisch nur exzitatorische Gefäßwirkungen nachweisbar sind, treten diese mit zunehmender Verlängerung der N-Nebenkette immer mehr zurück. Beim Adrenalin und N-Äthyladrenalin lassen sich exzitatorische und inhibitorische Wirkungen noch nebeneinander nachweisen, bzw. bei niedriger Dosierung sinkt der Blutdruck, und erst bei höherer Dosierung steigt er an. Die höher alkylierten und die aralkylierten Derivate setzten diese Reihe fort, indem sie in jeder Konzentration nur mehr gefäßerweiternd wirken.

Man wird diese zunächst für Adrenalin-Psb geltende Deutung auf die anderen aralkylierten Derivate wie Suprifen-Psb übertragen dürfen. Es ist interessant, daß sich aber selbst bei diesen stark gefäßerweiternden Substanzen noch latente konstriktorische Wirkungen aufdecken lassen durch kleine Dosen von Ergotamin. Anscheinend wird durch diese Vorbehandlung der gefäßerweiternde Effekt der aralkylierten und alkylierten Adrenalinderivate wie auch des Adrenalins selbst aufgehoben, was wiederum für einen gemeinsamen Angriffspunkt sprechen würde.

Hohe Dosen von Ergotamin oder einem anderen Sympathicolyticum haben dagegen keinen Einfluß auf die Wirkung von Suprifen-Psb, da sie nach der vorherrschenden Anschauung nur die exzitatorischen Rezeptoren blockieren[34].

Eine wesentliche Beeinflussung durch Kokain wurde erwartungsgemäß nicht gefunden.

Zusammenfassung.

50 sympathikomimetische Amine, die durch einen aliphatisch-aromatischen Rest an der Aminogruppe ausgezeichnet sind, wurden auf ihre Blutdruckwirkung an Hund, Katze und Mensch geprüft.

1. Die Grundwirkungen werden am *P*henyl-sek. *b*utyl-nor-Suprifen dargestellt.

Der diastolische Druck sinkt infolge peripherer Gefäßerweiterung, beim Hund stärker als bei der Katze. Das Ausmaß ist vom Ausgangswert, aber nicht von der Narkose abhängig.

Die Pulsamplitude nimmt zu, hauptsächlich durch Steigerung des Herzschlagvolumens. Die Vergrößerung kommt zum Teil über Kreislaufreflexe zustande und ist unter anderem von der Narkose und dem Ausgangswert abhängig.

Die Herzfrequenz wird auf überwiegend reflektorischem Wege gesteigert, in Morphin-Chloralose-Narkose stärker als in Evipan-Narkose. Nach Ausschaltung der Pressorezeptoren und am Herz-Lungen-Präparat ist die Frequenzwirkung gering.

Frequenzbeschleunigung und Zunahme der Pulsamplitude lassen auf eine Vermehrung des Herzminutenvolumens schließen.

Die Atmung wird beschleunigt und vertieft.

Tachyphylaxie wird nicht beobachtet.

2. Systematische Abwandlungen des aliphatischen Teils des N-Radikals haben qualitativ nur geringen Einfluß, ändern aber die Wirkungsstärke; sie nimmt mit Verlängerung der Kette, besonders von einem auf zwei C-Atome, zu und bei mehr als 4 C-Atomen wieder ab. Optimal ist der Phenyl-sek. butyl-Rest.

3. Bei N-Substitution verschiedener Sympathicomimetica der Adrenalin-Benzedrinreihe mit der Psb-Gruppe bestehen in der Wirkungsstärke Parallelen zu den pressorischen Stammkörpern. In der Wirkungsdauer unterscheiden sich die Verbindungen nur wenig, sie zeigen aber qualitative Unterschiede:

Die Adrenalin- und Corbasil-Derivate haben eine relativ stärkere Wirkung auf Pulsfrequenz und Blutdruckamplitude und die größte allgemeine Wirkungsstärke (75- bzw. 20mal stärker als das Suprifen-Derivat).

Das Methylepinin-Derivat ist 10fach schwächer als das Corbasil-Derivat und hat eine kurze Wirkungsdauer auf die Pulsamplitude.

Das Sympatol-Derivat wirkt am längsten, macht aber beim Menschen Dosierungsschwierigkeiten und Nebenwirkungen.

Die Ephedrin-, Veritol- und Benzedrin-Derivate sind am schwächsten. Zentrale Wirkungen wurden beim Benzedrin-Derivat nicht beobachtet.

4. Zusätzliche Abwandlungen des Grundkörpers (Verlängerung der Seitenkette, Ringschluß mit der N-Nebenkette, verschiedene Stellung der OH-Gruppe am Benzolkern und Austausch gegen eine Aminogruppe, Oxydation und Verätherung der alkoholischen OH-Gruppe) vermindern durchweg die allgemeine Wirkungsstärke, meist in Analogie zu entsprechend gebauten pressorischen Substanzen.

5. Aus dem Vergleich zwischen den aralkylierten und den homologen alkylierten Verbindungen geht hervor, daß der zweite Benzolring die allgemeine Wirkungsstärke und die therapeutische Breite vergrößert, aber die Blutdruckwirkung qualitativ wenig verändert.

6. Vier stereoisomere Racemate des Psb-Suprifens und eine optisch aktive Form wurden auf ihre Wirkungsstärke untersucht.

7. Der gefäßerweiternde, blutdrucksenkende Mechanismus der untersuchten Substanzen ist nicht histaminartig, cholinergisch oder sympathikolytisch, sondern peripherer, sympathikomimetisch-inhibitorischer Natur. Die Wirkung wird durch Kokain nicht wesentlich beeinflußt und durch adrenergische Blockade nicht aufgehoben; dagegen kommen durch kleine Ergotamindosen sonst latente konstriktorische Effekte zum Vorschein.

8. Zur Durchblutungssteigerung in therapeutischer Absicht erscheint das Psb-nor-Suprifen („Dilatol") am besten geeignet, weil es bei langer Wirkungsdauer ein günstiges Verhältnis zwischen Blutdruckwirkung und Herzfrequenzsteigerung hat. Es wirkt auch peroral sicher, wobei gegenüber einer s.c. Injektion die dreifache Dosis zur Erzielung der gleichen Wirkung erforderlich ist.

Literatur.

[1] BARBOUR: J. of Pharmacol. **8**, 126 (1916). — [2] BARCROFT, H., u. H. KONZETT: Helv. Physiol. Acta **7**, C_4—C_6 (1949). — [3] BARGER, G., u. H. H. DALE: J. of Physiol. **41**, 19 (1910/11). — [4] BOVET, D., u. F. BOVET-NITTI: Structure et activité pharmacodynamique des médicaments du système nerveux végétativ. Basel; S. Karger 1948. — [5] BURN, J. H., u. D. E. HUTCHEON: Brit. J. Pharmacol. **4**, 373 (1949). — [6] CHEN, K. K., C. K. WU u. E. HENRIKSEN: J. of Pharmacol. **36**, 363 (1929). — [7] CORET, I. A., u. H. B. VAN DYKE: J. of Pharmacol. **95**, 415 (1949). — [8] DUESBERG, R.: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 529. — [9] DUESBERG, R., u. W. SCHROEDER: Pathophysiologie und Klinik der Kollapszustände. Leipzig: S. Hirzel 1944. — [10] FRANKE, H.: Klin. Wschr. **1938**/II, 1695. — [11] GOLDENBERG, M., V. APGAR, R. DETERLING u. K. L. PINES: J. Amer. med. Assoc. **140**, 776 (1949). — [12] GOLDENBERG, M., K. L. PINES, E. F. BALDWIN, D. G. GREENE u. C. E. ROH: Amer. J. med. Sci. **5**, 792 (1948). — [13] GOLLWITZER-MEIER, KL.: erscheint demnächst. — [14] GUGGENHEIM, M.: Die biogenen Amine. Basel: S. Karger 1940. — [15] HAUSCHILD, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, **647** (1940). — [16] HJORT, J.: J. of Pharmacol. **50**, 131 (1934). — [17] HOLTZ, P.: Klin. Wschr. **1950**, 145. — [18] KIESE, M.: Jahreskurse f. ärztl. Fortbildg. **33**, Heft 8 S. 6—39 (1942). — [19] KONZETT, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 41 (1940/41). — [20] KÜLZ, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 136 (1936). — [21] KÜLZ, F., u. K. W. ROSENMUND: Klin. Wschr. **1938**/I, 344. — [22] KÜLZ, F., u. K. W. ROSENMUND: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 19 (1939). — [23] KÜLZ, F., u. K. W. ROSENMUND: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 135 (1936). — [24] KÜLZ, F., u. M. SCHNEIDER: Klin. Wschr. **1950**, 535. — [25] KUSCHINSKY, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 290 (1930). — [26] KUSCHINSKY, G., u. K. OBERDISSE: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 46 (1931). — [27] LANDS, A. M., F. P. LUDUENA, I. J. GRANT, E. ANANENKO u. M. L. TAINTER: J. of Pharmacol. **100**, 284 (1950). — [28] LANDS, A. M., V. L. NASH, H. M. MCCARTHY, H. R. GRANGER u. B. L. DERTINGER: J. of Pharmacol. **90**, 110 (1947). — [29] LANDS, A. M., V. L. NASH, B. L. DERTINGER, H. R. GRANGER u. H. M. MCCARTHY: J. of Pharmacol. **92**, 369 (1948). — [30] LANDS, A. M., E. E. RICKARDS, V. I. NASH u. K. Z. HOOPER: J. of Pharmacol. **89**, 297 (1947). — [31] MARSH, D. F., u. D. A. HERRING: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 489 (1949). — [32] MARSH, D. F., M. H. PELLETIER u. C. A. ROSS: J. of Pharmacol. **92**, 108 (1948). — [33] MERTENS,

O., H. Rein u. F. G. Valdecasas: Pflügers Arch. **237**, 454 (1936). — [34] Nickerson, M.: J. of Pharmacol. **95** (Pharm. Reviews) 27 (1949). — [35] Ostwald, E.: Med. Klinik **1950**, 733. — [36] Raymond-Hamet: Arch. internat. Pharmacodynamie **51**, 63 (1935). — [37] Rein, H.: Klin. Wschr. **1930**/II, 1485. — [38] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 127 (1931). — [39] Sturm, A., u. F. Stückmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **186**, 287 (1937). — [40] Tainter, M. L., A. M. Lands, F. P. Luduena, J. I. Grant u. E. Ananenko: Internat. Physiol. Kongress Kopenhagen 1950, Abstracts S. 478. — [41] Unna, Kl.: als Manuskript gedruckt; erscheint in: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. — [42] Vogt, W.: unveröffentlichte Versuche. — [43] Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. **41**, 292 (1939). — [44] Wezler, K., u. R. Thauer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 105 (1942/43). — [45] Zipf, H. F.: Klin. Wschr. **1947**, 545.

Dr. med. Kurt Wiemers, Köln-Lindenthal, Leiblplatz 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213. S. 314—334 (1951).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. M. Schneider).

Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe.

II. Mitteilung:

Analyse der peripheren Kreislaufwirkungen.

Von

Kurt Wiemers.

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Februar 1951.)

In der vorangegangenen Mitteilung[24] wurde über die Ergebnisse der Blutdruckversuche mit 50 neuen sympathikomimetischen Substanzen berichtet.

In dieser Mitteilung werden die Reaktionen wichtiger Gefäßgebiete (Extremität, Herz, Gehirn und Baucheingeweide) dargestellt. Unter den Substanzen wurden solche ausgewählt, bei denen im Blutdruckversuch außer Differenzen in der allgemeinen Wirkungsstärke auch qualitative Unterschiede festzustellen waren. Wir beschränkten uns auf Verbindungen mit gleichem N-Radikal (*P*henyl-*s*ek. *b*utyl-Rest = „Psb"), aber verschiedenem Grundskelett, und berücksichtigten unter diesen besonders das Suprifen- und das Adrenalin-Derivat:

$(OH)—C_6H_4—CHOH—CHCH_3—NH—CHCH_3—CH_2—CH_2—C_6H_5$ = Suprifen-Psb*

$(OH)_2—C_6H_3—CHOH—CH_2—NH—CHCH_3—CH_2—CH_2—C_6H_5$ = Adrenalin-Psb

$(OH)_2—C_6H_3—CHOH\ CHCH_3—NH—CHCH_3—CH_2—CH_2—C_6H_5$ = Corbasil-Psb

$(OH)_2—C_6H_3—CH_2—CHCH_3—NH—CHCH_3—CH_2—CH_2—C_6H_5$ = Methylepinin-Psb

$(OH)—C_6H_4—CHOH—CH_2—NH—CHCH_3—CH_2—CH_2—C_6H_5$ = Sympatol-Psb

Ferner wurden Vergleiche mit Adrenalin und nor-Adrenalin sowie mit Histamin und anderen gefäßerweiternden Substanzen vorgenommen, um Hinweise auf den Wirkungsmechanismus zu erhalten.

Methodik.

Es wurden 43 Versuche an Hunden und 9 an Katzen durchgeführt, meist bei künstlicher Beatmung. Als Narkotikum diente Chloralose (0,1 g/kg i.v.) oder Evipan (0,1 g/kg s.c.); die Hunde erhielten ½ Std vorher 2,5 mg/kg Morphin s.c. — Die Injektionen erfolgten in die V. jugularis ext. oder femoralis. Der Blutdruck

* „Dilatol"; Hersteller Tropon-Werke Köln-Mülheim.

wurde mit Hilfe der Trendelenburgschen Gegenstromapparatur und einer Frankschen Kapsel in der Art. brachialis, femoralis oder carotis comm. gemessen. Die Durchblutung wurde mit der Reinschen Thermostromuhr[20] möglichst an Arterie und Vene gleichzeitig registriert. In einzelnen Fällen zogen wir ferner die Plethysmographie einer Extremität, die Druckmessung im rechten Vorhof oder die Registrierung des Sauerstoffgehalts im venösen Blut mit der Sauerstoffuhr nach Kramer[14] heran.

Ergebnisse.

I. Durchblutungsmessungen an Einzelorganen.

1. Haut- und Muskelgebiet.

Als Testdosis wählten wir im allgemeinen 0,1 mg/kg Suprifen-Psb i.v. Andere Substanzen wurden in Dosen geprüft, die im Blutdruckversuch annähernd die gleiche Senkung des diastolischen Drucks bewirken wie 0,1 mg/kg Suprifen-Psb (siehe I. Mitteilung).

a) *Suprifen-Psb.*

Nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb steigt die Durchblutung der Extremität trotz der Senkung des arteriellen Mitteldrucks erheblich an (Abb. 1). Im Durchschnitt der Versuche wurde eine Steigerung von 200—300% errechnet, so daß man auf eine starke Abnahme des peripheren Widerstandes schließen kann. Die Wirkungsdauer beträgt bei i.v. Injektion 10—15 min. Eine Steigerung der schon relativ hoch gewählten Testdosis führt weniger zu einer weiteren Zunahme der Durchblutung als zu einer Verlängerung der Wirkungsdauer.

Bei intraarterieller Injektion (Abb. 2) tritt die Wirkung mit kürzerer Latenzzeit und ohne nennenswerte Änderung des Blutdrucks ein. Die Durchblutungskurve verläuft stetiger als bei i.v. Injektion, da sie nicht durch Gegenregulationen beeinflußt wird.

Quantitative Messungen mit einer blutigen Stromuhr ergaben, daß die Beindurchblutung nach i.a. Injektion von nur 0,01 mg/kg Suprifen-Psb um 300% des Ausgangswertes gesteigert wird.

Die *venöse* Durchblutungskurve verläuft im allgemeinen der arteriellen parallel; gelegentlich beschreibt sie zu Beginn eine negative Zacke (Abb. 13). Die vorübergehende Ausflußverminderung in der V. femoralis spricht für eine Volumzunahme der Extremität, die durch Eröffnung vorher verschlossener Kapillaren bedingt sein könnte. Beim Menschen läßt sich am Nagelfalz ein Aufschießen von Kapillarschlingen nach Injektion von Suprifen-Psb mikroskopisch beobachten (Ostwald[19]).

Das Plethysmogramm (Abb. 13) ergibt beim narkotisierten Hund keine Volumzunahme der Extremität, die Volumkurve verläuft vielmehr der Blutdruckkurve etwa parallel. Eine Erklärung ist uns nicht möglich; es sei nur erwähnt, daß ähnliche Differenzen zwischen dem Ergebnis der Plethysmographie und dem Verlauf der arteriellen und venösen Durchblutungskurven auch durch v. Issekutz[8] bei Untersuchungen mit anderen Substanzen beschrieben wurden.

Im allgemeinen steht also die Erniedrigung des Strömungswiderstandes im Vordergrund, und etwaige Kapazitätsänderungen sind gering. Demnach dürfte sich die Wirkung von Suprifen-Psb hauptsächlich auf

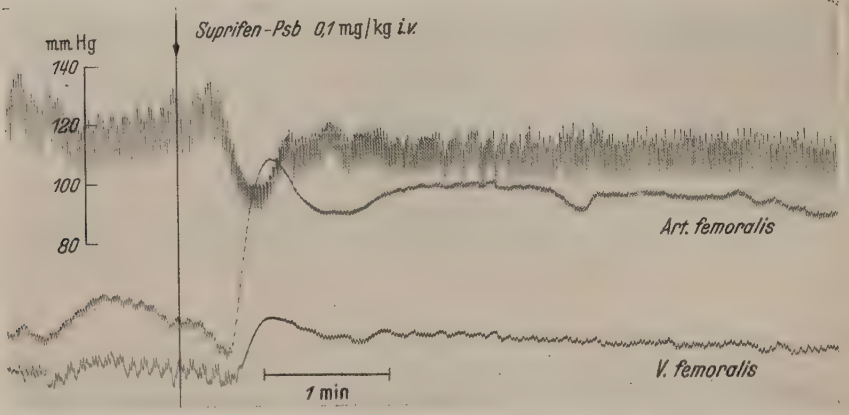


Abb. 1. Blutdruck (gedämpft) und Beindurchblutung nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg *Suprifen-Psb*. Die Registrierung der Venendurchblutung ist weniger empfindlich, daher der Ausschlag kleiner; die absolute Mehrdurchblutung ist in Arterie und Vene gleich. Hund, 8,5 kg, Morphin-Narkose mit Curarin. Künstliche Atmung.

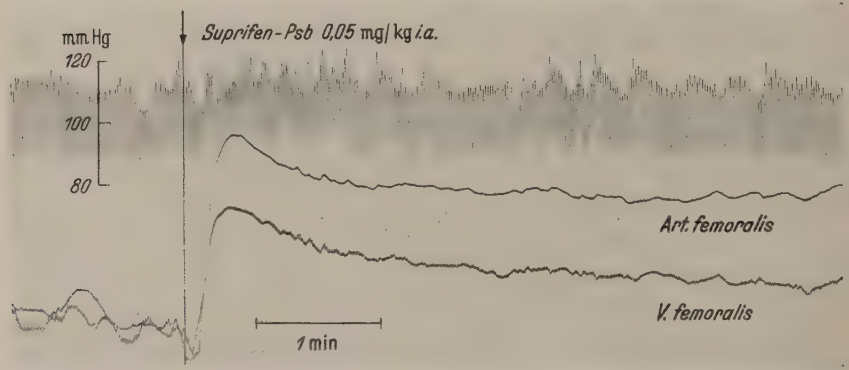


Abb. 2. Injektion von 0,05 mg/kg *Suprifen-Psb* intraarteriell. Gleicher Versuch, aus dem auch Abb. 1 stammt. — Die Mehrdurchblutung setzt in Arterie und Vene nahezu gleichzeitig ein.

die Arteriolen erstrecken. Über das Verhalten der arteriovenösen Anastomosen können wir nichts aussagen.

Die Sauerstoffsättigung des venösen Blutes steigt an (Abb. 13), die Kurve verläuft ähnlich wie die arterielle Durchblutungskurve. Der Sauerstoffverbrauch des Gewebes wird also nicht oder nicht wesentlich gesteigert, jedenfalls kann er nicht Ursache der Mehrdurchblutung sein.

Muskelgefäße. Im Gegensatz zur Sympathikusausschaltung wirkt Suprifen-Psb auf die Muskelgefäße stärker als auf die Hautgefäße.

Abb. 3 zeigt die Durchblutungssteigerung in der Art. femoralis vor und nach Abziehen der Haut des Beins. Nach dem Eingriff nimmt die Durchblutung relativ stärker zu als an der intakten Extremität, bei der Haut- und Muskeldurchblutung gemeinsam registriert werden.

Zu derselben Folgerung kam Ostwald[19] bei klinischen Untersuchungen, indem er die plethysmographisch ermittelte Volumzunahme des Armes in Beziehung setzte zur Änderung der Hauttemperatur. Nach Injektion von Suprifen-Psb war

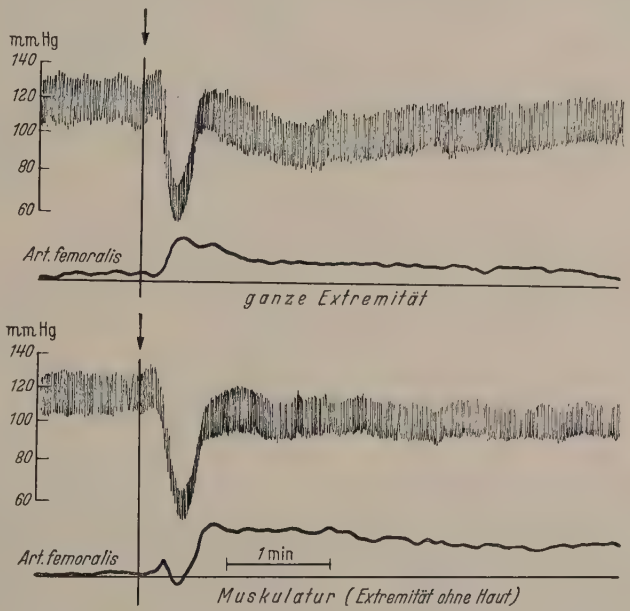


Abb. 3a und b. Durchblutung der Art. femoralis vor und nach Abziehen der Haut der Extremität. Beim Pfeil jeweils i.v. Injektion von 0,2 mg/kg *Suprifen-Psb.* — Der relativ höhere Durchblutungsanstieg in Abb. 3b zeigt an, daß die Muskulatur an der Mehrdurchblutung stärkeren Anteil nimmt als die Haut (Pause nach den Originalkurven). Hund, 6,8 kg, Morphin-Evipan-Narkose.

die Volumzunahme im Vergleich zu anderen gefäßerweiternden Substanzen größer als der Anstieg der Hauttemperatur, woraus auf eine stärkere Dilatation der Muskelgefäße geschlossen wurde.

Beim wachen Menschen haben wir mit der von Lewis und Grant[15] entwickelten plethysmographischen Methode quantitativ die Durchblutung des Unterarms gemessen, der zu fast 70% aus Muskulatur besteht. Nach 20 mg Suprifen-Psb per os stieg die Durchblutung auf das Doppelte (Abb. 4).

b) *Adrenalin-Psb.*

Adrenalin-Psb ist 50—100mal wirksamer auf die Beindurchblutung als Suprifen-Psb. Im Gegensatz zu Suprifen-Psb verläuft die venöse Durchblutungskurve häufig der arteriellen über längere Zeit nicht

parallel, sondern sie sinkt zunächst für einige Minuten ab und steigt erst an, wenn die arterielle Durchblutungskurve ihren Gipfel bereits überschritten hat (Abb. 5). Wir haben diesen Kurvenverlauf nur an der Extremität (auch nach Abziehen der Haut) beobachtet und müssen

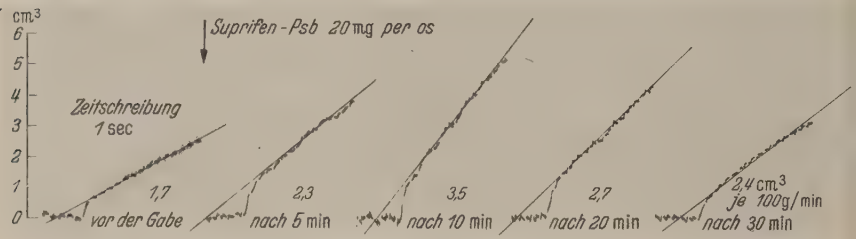


Abb. 4. Quantitative Registrierung der Unterarmdurchblutung beim Menschen mit der plethysmographischen Methode nach LEWIS und GRANT[15].
Eine am Oberarm angelegte Manschette wird jeweils 20 sec lang mit einem Druck von etwa 70 mm Hg aufgeblasen, so daß der venöse Rückstrom aus der Extremität gesperrt ist. Der arterielle Zufluß wird bei kurzfristiger Stauung nicht behindert, so daß die Volumzunahme der Durchblutung gleichgesetzt und in cm³/100 g/min umgerechnet werden kann. (Einzelheiten der Technik siehe BARCROFT und EDHOLM[1].)
Die relativ niedrige Ausgangsdurchblutung von 1,7 cm³/100 g/min wird durch 20 mg *Suprifen-Psb* per os auf 3,5 cm³/100 g/min gesteigert. Der im Plethysmographen eingeschlossene Teil des Unterarms besteht zu rund 65% aus Muskulatur; der Anteil der Muskulatur an der Normdurchblutung liegt noch etwas höher[2].

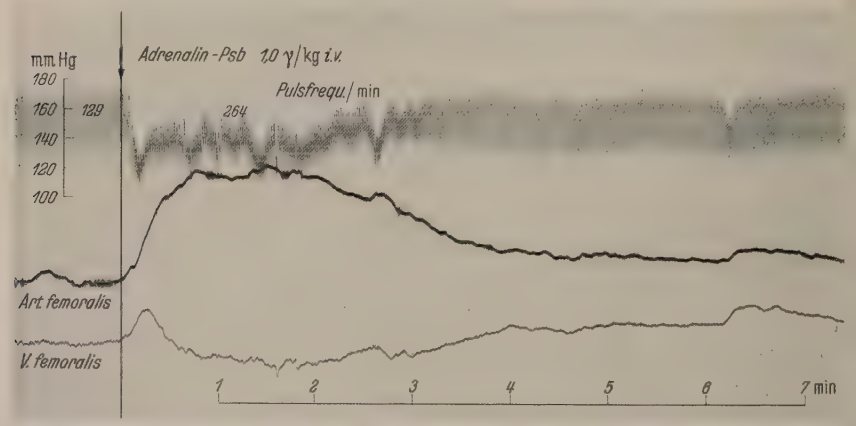


Abb. 5. Wirkung einer i.v. Injektion von 1 γ/kg *Adrenalin-Psb* auf die Beindurchblutung. Das vorübergehende Absinken der venösen Durchblutungskurve läßt auf eine Kapazitätszunahme schließen; der arterielle Mitteldruck sinkt trotzdem nur wenig ab. Hund, 11 kg, Morphin-Chloralose-Narkose. Künstliche Atmung.

daraus schließen, daß das Volumen der Extremität unter Adrenalin-Psb zunimmt. Wie die Abb. 6 zeigt, ist dieses Verhalten dosisabhängig. Offenbar erreicht die Kapazitätszunahme des Gefäßsystems schon bei kleinen Dosen ihr Maximum, so daß sie bei größeren Dosen gegenüber der Widerstandsabnahme kaum mehr eine Rolle spielt.

c) *Vergleich mit Adrenalin und Arterenol.*

Die körpereigenen Sympathikusstoffe wurden in die Versuche einbezogen, weil wir die gefäßerweiternde Wirkung unserer aralkylierten Substanzen als inhibitorisch-sympathikomimetisch deuten, in der Literatur jedoch keine Übereinstimmung darüber herrscht, unter welchen Bedingungen gefäßerweiternde Adrenalinwirkungen eintreten. U. a. wird der Ort der Injektion[5] oder ein reflektorischer Mechanismus[23] als ausschlaggebend angesehen.

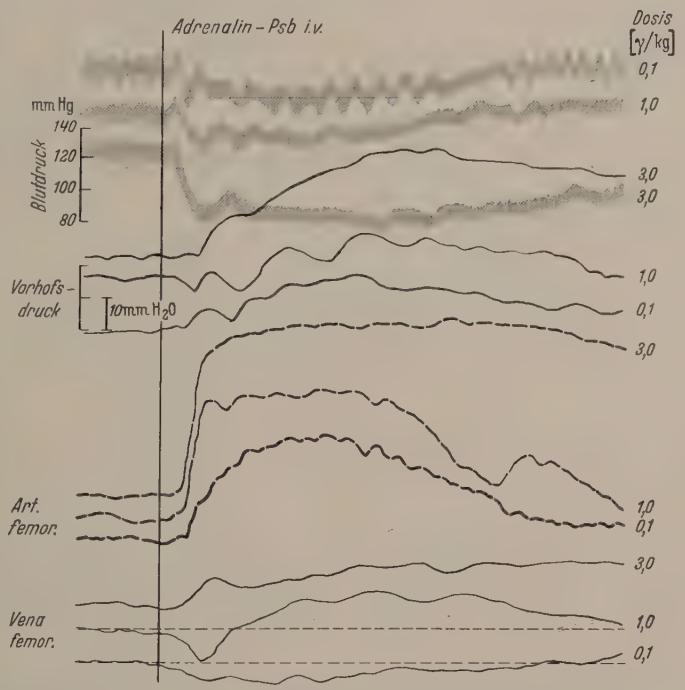


Abb. 6. Wirkung von Adrenalin-Psb bei steigender Dosierung. Pausen von Originalkurven, die hintereinander am gleichen Tier gewonnen wurden. Von oben nach unten: Arterieller Mitteldruck (die Eichung gilt für die unterste Kurve), Druck im rechten Vorhof, Durchblutung der Art. und V. femoralis. Hund, 9,2 kg, Morphin-Chloralose-Narkose. Künstliche Atmung.

1. Meier, Gross und Eichenberger[16] erhielten nach i.v. Injektion von 0,01—5,0 γ/kg Adrenalin bei Katzen regelmäßig eine Zunahme der Durchblutung in der Art. femoralis. 0,1—5,0 γ/kg Arterenol steigerten in ihren Versuchen gleichfalls die Beindurchblutung; die Wirkung nahm aber nur bis zur Dosis 1 γ/kg entsprechend der injizierten Menge zu und bei höheren Dosen wieder ab. Zumindest bei den höheren Dosen kann man annehmen, daß die Mehrdurchblutung nicht durch Dilatation der Beingefäße, sondern druckpassiv bedingt war. —

In eigenen Versuchen an Hund und Katze hatten wir mit 2 γ/kg Adrenalin oder Arterenol die gleichen Ergebnisse, wenn die Tiere ungenügend erwärmt waren (Rektaltemperatur 30—34° C). Bei Hunden, deren Körpertemperatur durch künstliche Wärmezufuhr auf 37—38° eingestellt war, fanden wir dagegen auf 2 γ/kg Adrenalin oder Arterenol eine Durchblutungsabnahme in der Art. femoralis. Der Blutdruck stieg bei den gewärmten Tieren höher an, eine sekundäre Drucksenkung fehlte meist.

2. Bei der gleichen Dosierung (2 γ/kg Adrenalin oder Arterenol) hat die Injektionsart in unseren Versuchen keinen wesentlichen Einfluß auf die Reaktion der Extremitätengefäße, sofern die Hunde etwa 38° Körpertemperatur hatten. Die Durchblutung nahm ab, gleich, ob intravenös, in die Aorta oder in einen Seitenast der gemessenen Art. femoralis injiziert wurde; die Blutdruckwirkung war bei i.v. Injektion am stärksten.

Anderseits sind auch dilatatorische Adrenalineffekte nicht an die intravenöse Injektionsweise gebunden. GROSSE-BROCKHOFF, SCHNEIDER und SCHOEDEL[7] konnten zeigen, daß bei einem Hund, der auf eine i.v. Adrenalin-Injektion (10 γ p.d.) mit Dilatation der Beingefäße reagiert, eine entsprechend kleinere (0,25 γ p.d.) intraarteriell injizierte Dosis gleichfalls gefäßerweiternd wirkt. GROSS[6] fand ebenfalls ein qualitativ gleichartiges Verhalten der Extremitätengefäße auf i.v. und i.a. Adrenalingaben; dagegen kam es nach i.a. Injektion von Arterenol in seinen Versuchen nie zu einer Zunahme, sondern auch bei den kleinsten wirksamen Dosen fast immer zu einer Abnahme der Durchblutung.

3. Beim abgekühlten Versuchstier, dessen Extremitätengefäße nach i.v. Injektion mittlerer Adrenalindosen (0,5—2 γ/kg) erweitert werden, schlägt die Wirkung mit Steigerung der Dosis in eine Vasokonstriktion um. Meist schließt sich an die Minderdurchblutung eine zweite Phase an, in der die Durchblutung über die Ausgangslage hinausgeht (Abb. 7). Durch plethysmographische Registrierung konnten wir die Ergebnisse der Stromuhrmessung bestätigen. — In gleicher Weise wird die dilatatorische Wirkung einer i.a. Adrenalin-Injektion durch Steigerung der Dosis in eine Konstriktion umgekehrt[6].

4. Wenn auf eine bestimmte Adrenalindosis (in unseren Versuchen 2 γ/kg bei Katzen) eine Mehrdurchblutung der Extremitäten erfolgt, so läßt sie sich durch Vorbehandlung mit Atropin (0,5 mg/kg), Priscol (0,8 mg/kg), Dibenamin (5 mg/kg) oder Hydergin (0,1 mg/kg) weder aufheben noch umkehren.

Wir möchten aus unseren Versuchsergebnissen und den genannten Arbeiten anderer Autoren schließen, daß Adrenalin in niedriger Konzentration eine direkte inhibitorische und in hoher Konzentration eine exzitatorische Wirkung auf die Gefäßmuskulatur hat. Die oft beschriebenen Unterschiede zwischen i.v. und i.a. Injektion sind u. E. in erster Linie dadurch bedingt, daß am Wirkungsort eine andere Konzentration erreicht wurde, und erst in zweiter Linie durch die verschiedene Auswirkung auf den Blutdruck und durch reflektorische Wirkungen. Die Grenze zwischen „kleiner" und „großer" Dosis bzw. Konzentration liegt allerdings nicht fest. Durch die Untersuchungen von REIN und Mitarb.[21, 22] wissen wir, daß diese Grenze für die Muskelgefäße durch Arbeit und Unterkühlung zu den hohen Dosen hin verschoben wird. Wir können daher in diesem Punkte mit dem Begriff der „Ausgangslage" eine gewisse, wenn auch nicht umfassende Vorstellung verbinden.

Unter geeigneten Versuchsbedingungen unterscheiden sich Adrenalin einerseits und Adrenalin-Psb oder Suprifen-Psb anderseits in ihrer Wirkung auf die Extremitätendurchblutung nur quantitativ. In beiden Fällen läßt sich die Mehrdurchblutung weder durch Parasympathikus-

blockade noch durch Sympathikolytika aufheben. Dies scheint uns dafür zu sprechen, daß in beiden Fällen ein ähnlicher, wenn nicht identischer, selbständiger dilatatorischer Mechanismus in Tätigkeit tritt.

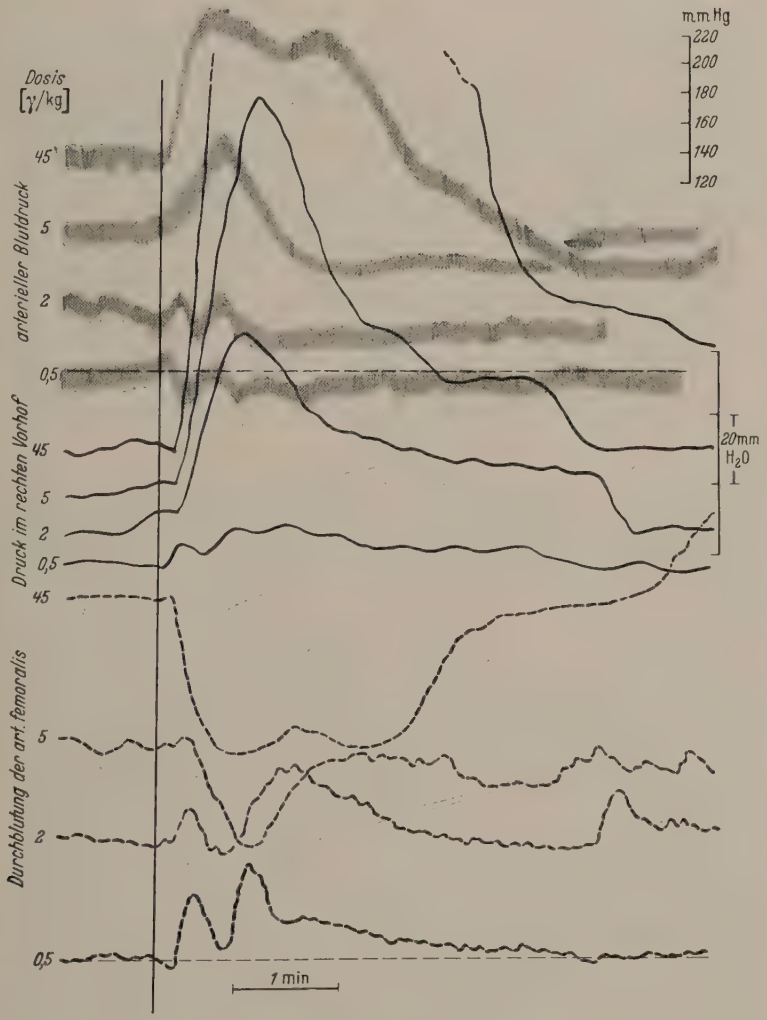


Abb. 7. Wirkung von steigenden Dosen *Adrenalin* (0,5, 2,0 5,0 und 45 γ/kg) am abgekühlten Hund (Rektaltemperatur 33°).

Pausen der Originalkurven, die hintereinander am gleichen Tier gewonnen wurden. Von oben nach unten: Arterieller Mitteldruck (die Eichung gilt für die oberste Kurve), Druck im rechten Vorhof, Durchblutung der Beinarterie. Bei den kleinen Dosen überwiegt die periphere Dilatation, der arterielle Mitteldruck sinkt leicht ab. Bei höheren Dosen setzt sich in der ersten Phase die exzitatorische Wirkung auf die Gefäße durch, dementsprechend steigt der Blutdruck an; gleichzeitig Rückstauung vor dem rechten Herzen. Hund, 9 kg, Morphin-Chloralose-Narkose, künstliche Atmung.

d) *Vergleich mit anderen gefäßerweiternden Substanzen.*

Hinsichtlich der Durchblutungsspitze sind folgende Dosen wirkungsgleich: Suprifen-Psb 0,1 mg/kg bzw. Adrenalin-Psb 1 γ/kg = tert. butyl-nor-Adrenalin $\sim$ 1 γ/kg = Isopropyl-nor-Adrenalin (Aludrin) 2 γ/kg = Histamin 5 γ/kg = Priscol 0,8 mg/kg = Padutin 0,04 E/kg. Diese Verhältniszahlen können im Einzelfall infolge des verschiedenen Wirkungsmechanismus dieser Substanzen abweichen. Suprifen-Psb und Adrenalin-Psb haben im allgemeinen die längste Wirkungsdauer.

Die Einzelheiten des Kurvenablaufs sind nicht für bestimmte Substanzen charakteristisch, sondern mehr durch die individuelle Reaktionsweise des Versuchstiers bestimmt. Eine nähere Differenzierung ist, abgesehen von der pharmakologischen Charakterisierung durch synergistische oder antagonistische Pharmaka, nur durch gleichzeitige Durchblutungsmessungen in verschiedenen Organen möglich.

2. Herz.

Die Thermoelemente wurden am ramus desc. der linken Koronararterie angelegt. Wir haben die aralkylierten Substanzen untereinander und mit rein aliphatisch substituierten Adrenalinderivaten in Dosen verglichen, die hinsichtlich der Blutdrucksenkung äquivalent sind. Adrenalin selbst wurde in einer Dosierung geprüft, die beim abgekühlten Hund die Beindurchblutung um den gleichen Betrag steigert wie 0,1 mg/kg Suprifen-Psb.

Nach ihrer Wirkung lassen sich die geprüften Stoffe in zwei Gruppen aufteilen:

Adrenalin-Psb und die N-alkylierten Adrenalinderivate Aludrin und tert. butyl-nor-Adrenalin erhöhen die Koronardurchblutung unabhängig von den Versuchsbedingungen in ähnlicher Weise wie Adrenalin. Soweit die Stromuhrkurven eine quantitative Schätzung zulassen, wird die Durchblutung des Herzens stärker gesteigert als die der Extremitäten. Die Wirkungsdauer ist am längsten bei Adrenalin-Psb und am kürzesten bei Adrenalin.

Die aralkylierten Substanzen, die sich nicht unmittelbar vom Adrenalin-Grundskelett ableiten, steigern zwar gleichfalls die Koronardurchblutung, aber der Effekt ist nicht ganz so konstant und deutlich schwächer als bei den Substanzen der Adrenalin-Gruppe. Aus Abb. 8 geht hervor, daß die Herzdurchblutung — bei etwa gleicher Wirkung auf die Extremitätendurchblutung — unter Suprifen-Psb weniger zunimmt als unter Adrenalin-Psb. Mit Corbasil-Psb, Methylepinin-Psb und Sympatol-Psb wurden am selben Versuchstier Kurven gewonnen, in denen die Effekte auf Koronar- und Beindurchblutung im gleichen Verhältnis stehen wie bei Suprifen-Psb, sodaß auf deren Wiedergabe verzichtet werden kann.

3. Splanchnicusgebiet.

a) *Darm, Niere und Uterus.*

Art. und Vena mesenterica werden nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb für einige Minuten minderdurchblutet, zuweilen geht eine kurzdauernde Mehrdurchblutung voraus (Abb. 14). Da der Tiefpunkt

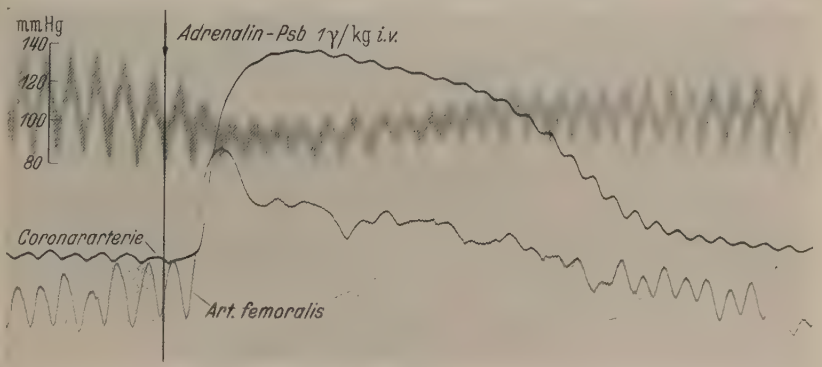


Abb. 8a.

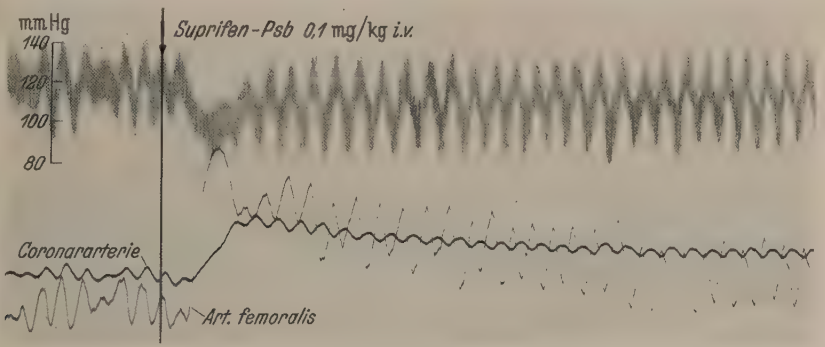


Abb. 8b.

Abb. 8a und b. Wirkung von Adrenalin-Psb und Suprifen-Psb auf die Koronardurchblutung. Bei etwa gleicher Durchblutungssteigerung in der Extremität hat Adrenalin-Psb einen weit stärkeren Effekt auf die Herzdurchblutung. — Hund, 15 kg, Morphin-Chloralose-Narkose, künstliche Atmung.

der Kurve zu einer Zeit erreicht wird, wo der Blutdruck schon wieder angestiegen ist, scheint über druckpassive Vorgänge hinaus eine gewisse Konstriktion der Darmgefäße stattzufinden.

Die Nierengefäße reagieren in unseren Versuchen auf Suprifen-Psb vorwiegend mit Mehrdurchblutung, gelegentlich mit Strömungsverminderung. In beiden Fällen sind die Veränderungen nicht sehr ausgesprochen. Arterie und Vene verhalten sich gleichsinnig.

Die Uterusdurchblutung wird durch Suprifen-Psb und Adrenalin-Psb in der üblichen Dosierung beim nichtträchtigen Tier kaum verändert.

b) *Milz.*

Die Milz kontrahiert sich nach i.v. Injektion von Suprifen-Psb und schüttet Depotblut aus. Abb. 9 zeigt, daß die Durchblutungskurve der Milzvene ansteigt, während die Strömung in der Milzarterie unbeeinflußt

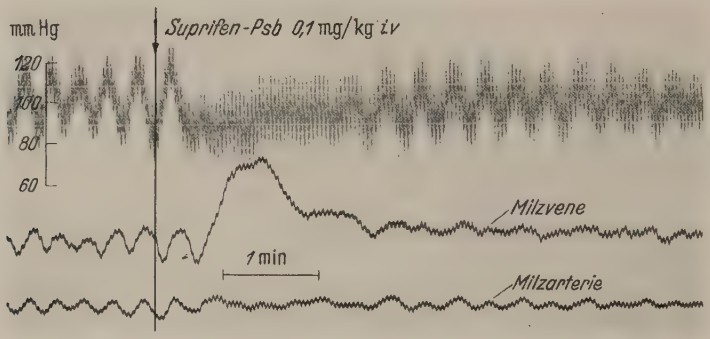


Abb. 9. Ausschüttung von Depotblut aus der Milz nach 0,1 mg/kg *Suprifen-Psb.* Hund, 22,5 kg, Morphin-Chloralose-Narkose, künstliche Atmung.

bleibt. Der Kurvenverlauf ist ähnlich wie nach Injektion von 2 γ/kg Adrenalin, während beim Stammkörper Suprifen die Ausschüttung aus der Milzvene mehr protrahiert verläuft.

4. Gehirn.

Zur Prüfung der Gehirndurchblutung wurde die Strömung in einer Carotis interna registriert.

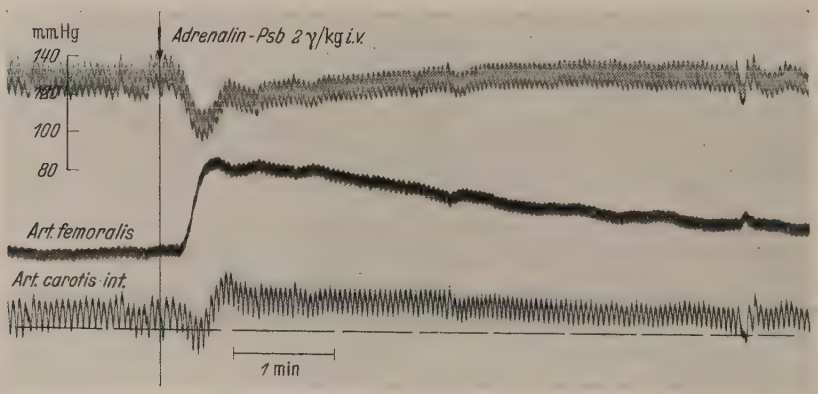


Abb. 10. Steigerung der Gehirndurchblutung nach 2 γ/kg *Adrenalin-Psb* i.v. Die Wirkung ist geringer als an der Extremität. Hund, 8,5 kg, Morphin-Chloralose-Narkose. Spontanatmung.

Bei insgesamt 9 Versuchen fand sich in der Mehrzahl nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb oder 2 γ/kg Adrenalin-Psb (Abb. 10) eine deutliche, zum Teil erhebliche Mehrdurchblutung. Bei einem Hunde verhielt sich die Durchblutung der Art. carotis int. zu Versuchsbeginn

mehr druckpassiv, später stieg sie nach anfänglichem Absinken über die Ausgangslage.

In einem Versuch wurden die Anastomosen zwischen dem Kreislauf der Carotis interna und externa beiderseits unterbunden. Nach Injektion von Suprifen-Psb kam es zu einem Absinken der Internadurchblutung, aber in geringerem Ausmaß, als es bei einem rein druckpassiven Verhalten zu erwarten gewesen wäre.

Insgesamt wird man schließen dürfen, daß die Gehirngefäße durch Suprifen-Psb und Adrenalin-Psb erweitert werden, aber weniger stark als die Gefäße der Extremität.

II. Das Herzminutenvolumen.

1. Bestimmung des HMV beim Menschen.

Eine ausführliche Untersuchung der Kreislaufumstellung durch Suprifen-Psb mit Hilfe der physikalischen Methoden bei Patienten mit peripheren Durchblutungs-

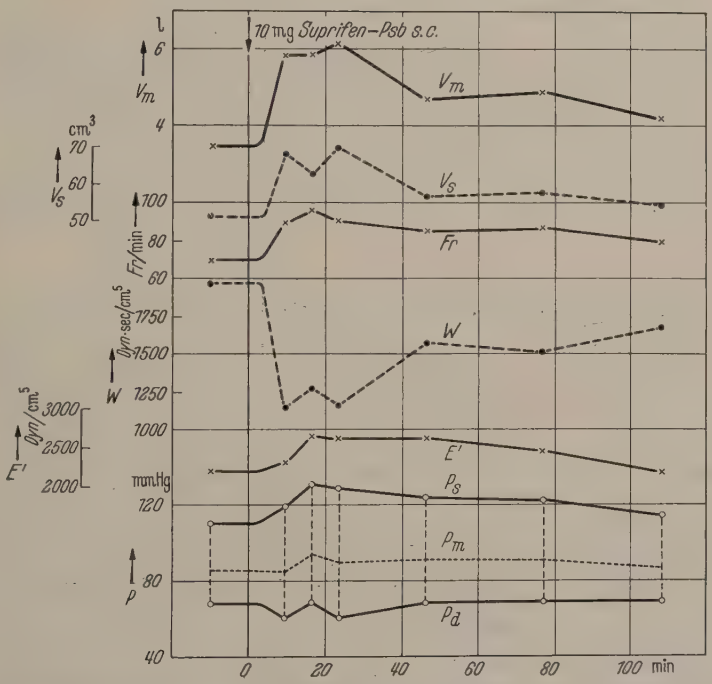


Abb. 11. Kreislaufumstellung nach s.c. Injektion von 10 mg *Suprifen-Psb* am Menschen (im Liegen, Methode nach Wezler-Böger).

störungen wird von anderer Seite veröffentlicht (Kaiser[10]). Wir beschränken uns deshalb auf die Wiedergabe eines Versuchs am gesunden Menschen aus unserem Material.

Wie aus Abb. 11 hervorgeht, steigt das nach Wezler-Böger errechnete HMV unter starker Abnahme des peripheren Widerstandes

(W) an, in diesem Falle bei liegender Versuchsperson nach 10 mg Suprifen-Psb s.c. um 75%. Die Berechnung des elastischen Widerstandes (E′) ergab in diesem Versuch eine Zunahme, die aber zu gering ist, um als Ursache der Pulsamplituden-Vergrößerung angesprochen werden zu können. E′ verhält sich in unseren Versuchen verschieden, es kann sowohl leicht absinken wie auch ansteigen.

Beim sitzenden Menschen steigt die Pulsamplitude stärker an und der mittlere arterielle Druck sinkt weniger ab als im Liegen, während im Verhalten des diastolischen Blutdrucks keine ausgeprägten Unterschiede bestehen. Demnach ist anzunehmen, daß das HMV bei aufrechter Körperhaltung stärker ansteigt als im Liegen.

2. Registrierung des HMV am narkotisierten Tier.

Die geringere Vergrößerung der Pulsamplitude beim narkotisierten Tier läßt schon vermuten, daß das HMV in Narkose durch die aralky-

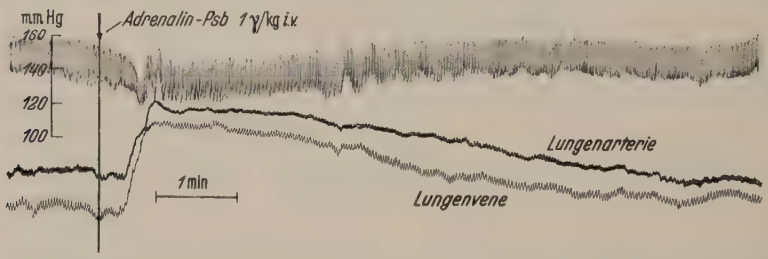


Abb. 12. Lungendurchblutung nach Injektion von 1 *γ/kg Adrenalin-Psb* i.v. Erhebliche Steigerung des HMV. Hund, 18 kg, Morphin-Chloralose-Narkose. Künstliche Atmung.

lierten Substanzen weniger gesteigert wird als beim wachen Organismus; die Durchblutungsmessungen an Arterie und Vene eines Lungenlappens bestätigen dies.

Immerhin läßt sich bei Adrenalin-Psb auch unter unseren ungünstigen Bedingungen (Narkose, operative Belastung durch die Thoraxeröffnung) stets eine Vergrößerung des HMV nachweisen (Abb. 12). Sie dauert bei i.v. Injektion von 1 γ/kg etwa 8 min und nach 5 γ/kg i.m. fast 1 Std. Arterielle und venöse Durchblutungskurve laufen parallel, nennenswerte Änderungen in der Blutfülle der Lunge sind nicht nachzuweisen.

Auf i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb wird das HMV in unseren Versuchen nur wenig gesteigert, bei ungünstiger Ausgangslage kann die Lungendurchblutung vorübergehend mit dem Blutdruck etwas absinken. Wahrscheinlich ist in diesen Fällen der venöse Rückstrom unzureichend. Bei Durchblutungsmessungen an der V. cava inf. unterhalb und oberhalb des Zwerchfells konnten wir keine Vermehrung des Zuflusses aus den Lebervenen nachweisen; die Versuche wurden aus

technischen Gründen an Katzen ausgeführt, bei denen, zumal nach Thoraxeröffnung, das HMV in Narkose kaum gesteigert wird.

Am denervierten Herz-Lungen-Präparat wird das HMV durch Suprifen-Psb nur wenig erhöht, und bei wiederholten, kurz aufeinanderfolgenden Injektionen ist gelegentlich eine Wirkungsumkehr zu beobachten (Gollwitzer-Meier[4]).

3. Der Vorhofsdruck.

Um ohne zusätzliche operative Belastung einen Einblick in die Rückflußverhältnisse zum rechten Herzen zu erhalten, haben wir in einigen Versuchen den Druck im rechten Vorhof durch einen Katheter registriert, der durch die V. jugularis ext. eingeführt wurde.

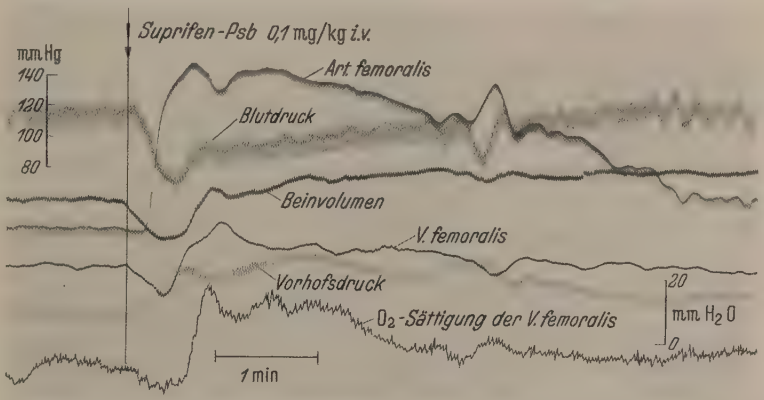


Abb. 13. Der Vorhofsdruck steigt nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb an, als Ausdruck eines erhöhten venösen Angebots. — Die aus der arteriellen und venösen Durchblutungskurve zu erschließende Kapazitätsänderung wird durch das Plethysmogramm des anderen Beins nicht bestätigt.
Die Sauerstoffsättigungskurve der V. femoralis ist aus einem anderen Versuch, dessen Blutdruck- und Durchblutungskurven sich mit den hier abgebildeten nahezu decken, zwecks Platzersparnis in diese Abbildung eingefügt. Hund, 9,3 kg, Morphin-Chloralose-Narkose, künstliche Atmung.

Nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-Psb (Abb. 13) oder 1 γ/kg Adrenalin-Psb (Abb. 6) steigt der Vorhofsdruck in flachem Bogen um etwa 20 mm H_2O an. Wir sehen darin den Ausdruck eines gesteigerten venösen Angebots an das Herz. Venendruckmessungen an der V. cubitalis beim Menschen nach Moritz-Tabora ergaben nach kurzdauernder Senkung ebenfalls einen Anstieg des venösen Drucks um mehr als 10 mm H_2O (Ostwald[19]). Im Tierversuch nimmt mit einer Steigerung der Dosis vor allem die Dauer der Drucksteigerung zu.

Unter Adrenalin in kleinen Dosen bis zu 1 γ/kg hat die Vorhofdruckkurve in unseren Versuchen einen ähnlichen Verlauf. Ab 2 γ/kg wird sie aber spitzgipflig mit sehr steilem Anstieg, und schon bei 5 γ/kg beträgt die Drucksteigerung beispielsweise 120 mm H_2O (Abb. 7): gleichzeitig wird die Herzfrequenz reflektorisch verlangsamt. Solche

Drucksteigerungen sind im Gegensatz zu den nach Adrenalin-Psb und Suprifen-Psb beobachteten wohl ein Zeichen relativer Herzinsuffizienz.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine schematische Übersicht über die Durchblutungsänderungen in den verschiedenen Organen nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg Suprifen-

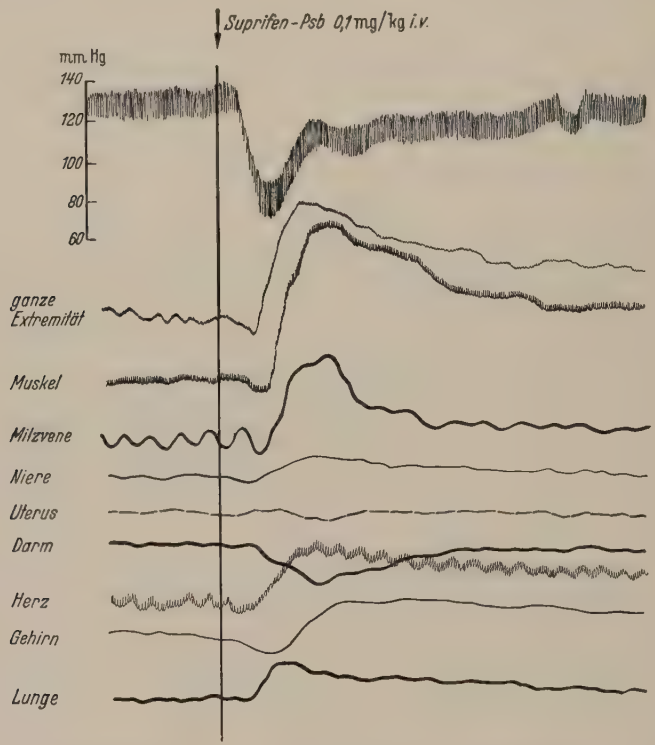


Abb. 14. Übersichtsschema über die Durchblutung verschiedener Organgebiete nach i.v. Injektion von 0,1 mg/kg *Suprifen-Psb*. Pausen von Originalkurven aus verschiedenen Versuchen an narkotisierten Hunden.

Psb findet sich in Abb. 14. Sie dürfte mit geringen Abweichungen auch für die anderen aralkylierten Derivate aus dieser Reihe zutreffen.

I. Wirkung auf einzelne Organgebiete.

Die *Haut*- und besonders die *Muskel*durchblutung wird durch unsere Substanzen erheblich gesteigert, während der Zufluß zum Splanchnikusgebiet, wenn überhaupt, nur geringfügig zunimmt. Dieser Befund erinnert zunächst an die Histaminwirkung; doch wird die Wirkung von Suprifen-Psb durch Antihistaminika nicht abgeschwächt. Der Vergleich mit der Durchblutungsänderung unter Adrenalin und nor-Adrenalin weist vielmehr auf eine sympathikomimetische Wirkungsweise hin.

Die *Herz*durchblutung wird durch alle geprüften Substanzen gesteigert. Bei Suprifen-Psb ist die erhöhte Koronardurchblutung Folge einer inhibitorischen Wirkung auf die Koronargefäße, so daß die Durchblutung stärker zunehmen kann, als es der Stoffwechselsteigerung durch den Frequenzanstieg entspricht (Gollwitzer-Meier[4]). Im Hinblick auf die klinische Anwendung ist jedoch zu betonen, daß dieser günstige Effekt eine entsprechende Erweiterungsfähigkeit der Koronarien zur Voraussetzung hat.

Demgegenüber ist die unter *Adrenalin* eintretende Vermehrung der Koronardurchblutung vorwiegend Folge eines erhöhten Herzstoffwechsels, so daß es trotz absoluter Steigerung zu einer relativen Minderdurchblutung des Herzens kommen kann.

Nach den Untersuchungen von Konzett[12] steigert Isopropyl-nor-Adrenalin den Sauerstoffverbrauch des Herzens noch stärker als Adrenalin, und es ist anzunehmen, daß auch beim Adrenalin-Psb eine Stoffwechselsteigerung an der Zunahme der Koronardurchblutung ursächlich beteiligt ist. Wir haben deshalb für therapeutische Versuche das Suprifen-Psb vorgezogen. Es erscheint uns aber möglich, daß die stärkere Antreibung des Herzens durch Adrenalin-Psb bei geeigneter Indikationsstellung, Verabreichungsweise und Dosierung einen Vorteil bedeutet; im einzelnen bedürfen diese Verhältnisse noch der Aufklärung.

Eine Erweiterung der *Gehirn*gefäße läßt sich auch unter unseren ungünstigen Bedingungen nachweisen. Wir glauben uns zu der Annahme berechtigt, daß die Gehirndurchblutung am wachen Organismus bei starker Vergrößerung des HMV eine erhebliche Zunahme erfährt.

Einen Hinweis erhalten wir aus den Befunden von Ostwald[19], der bei Patienten mit eingeschränkter Gehirndurchblutung (Arteriosklerose, Hypertonie) unter der Wirkung von Suprifen-Psb eine Verbesserung der Gedächtnisleistung festgestellt hat; die Wirkung könnte allerdings auch zentral bedingt sein (Erhöhung der Bewußtseinshelligkeit).

II. Die Aufrechterhaltung der Mehrdurchblutung.

Man sollte erwarten, daß die gleichzeitige Gefäßerweiterung im Haut-Muskelgebiet, im Herzen und im Gehirn zu einem raschen Abfall des Blutdrucks führt, und daß sich die Mehrdurchblutung in diesen Organen infolge einer Abnahme des arteriovenösen Druckgefälles selbst aufhebt. Die Kurven zeigen, daß dies nicht der Fall ist, sondern daß die Durchblutung kontinuierlich und so langsam zur Ausgangslage zurückkehrt, wie es dem Abbau der Substanzen entsprechen mag.

Wir übersehen die Regulationen, die die Mehrdurchblutung in den erweiterten Gefäßgebieten sicherstellen, erst zum Teil und können sie in ihrer quantitativen Bedeutung nur abschätzen.

1. *Engstellung anderer Gefäßgebiete.*

In den Tierversuchen fanden wir eine Minderdurchblutung im Darmgebiet. Sie ist geringer als die Drosselung der Mesenterialgefäße durch

Adrenalin und dürfte trotz der Ausdehnung dieses Gefäßgebietes an der Regulation des Blutdrucks relativ geringen Anteil haben.

2. *Kapazitätsänderungen.*

Es besteht zwar Grund zu der Annahme, daß die Vasodilatation nach Suprifen-Psb sich vorwiegend auf die für den Strömungswiderstand maßgebenden Gefäßabschnitte, also die Arteriolen, erstreckt und erst in zweiter Linie auf das Kapillargebiet. Immerhin läßt sich eine Neueröffnung von Kapillaren nachweisen, und auch die Querschnittsvergrößerung der Arteriolen muß eine gewisse Zunahme des Fassungsvermögens mit sich bringen. Diese Kapazitätszunahme sei zunächst für sich betrachtet und abgetrennt von der Tatsache, daß die Querschnittsvergrößerung eine Beschleunigung des Abstroms in die Peripherie zur Folge hat. Man wird sie dann relativ gering veranschlagen und annehmen können, daß sie durch die Entleerung der Depotorgane ausgeglichen wird.

Es ist auffallend, daß der mittlere arterielle Druck unter Adrenalin-Psb weniger absinkt als unter Suprifen-Psb, obwohl bei Adrenalin-Psb auf Grund der Stromuhrversuche eine stärkere Kapazitätszunahme im Bereich der Extremitäten anzunehmen ist.

3. *Steigerung des HMV.*

Beim wachen Tier und beim Menschen wird das HMV erheblich gesteigert und auf diese Weise dafür gesorgt, daß der arterielle Mitteldruck trotz Abnahme des peripheren Widerstandes und der damit verbundenen Senkung des diastolischen Drucks bei normaler Ausgangslage einigermaßen gehalten wird. Da wir der Zunahme des HMV besondere Bedeutung für die Steigerung der peripheren Durchblutung zumessen, sollen die beteiligten Faktoren näher besprochen werden.

a) Der Abstrom vom Herzen.

Adrenalin selbst hat zwar eine starke exzitatorische Herzwirkung, der exzitatorische Effekt auf das Gefäßsystem kann aber einer Steigerung des HMV entgegenwirken. Wie oben gezeigt wurde, wird der vasokonstriktorische Effekt durch Erwärmung verstärkt.

Dementsprechend erhielten KAHLSON und MERTENS[9] unter ihren Versuchsbedingungen mit Adrenalin eine periphere Gefäßverengerung und bei mittleren Dosen meist eine Senkung des HMV. Beim Menschen ist bei der üblichen Dosierung die inhibitorische Wirkung stärker ausgeprägt, und das HMV nimmt zu. Diese Wirkung kann durch Steigerung der Dosis nicht verstärkt werden, weil dann auch die gefäßverengernden Wirkungen manifest werden.

Da bei den aralkylierten Derivaten die Adrenalinwirkung auf das Herz und die Depotorgane mehr oder weniger erhalten, eine exzitatorische

Gefäßwirkung aber praktisch nicht mehr vorhanden ist, kann, besonders mit Adrenalin-Psb, eine beträchtlichere Steigerung des HMV erreicht werden als mit Adrenalin selbst.

b) Der Rückfluß zum Herzen.

Das unter Suprifen-Psb vermehrt in die Peripherie abströmende Blut kehrt relativ schnell wieder zum Herzen zurück, da die Kapazität des Gefäßsystems nicht wesentlich zunimmt. Wir fassen die Steigerung des Vorhofdrucks als Zeichen eines erhöhten venösen Zuflusses auf, können aber nicht mit der wünschenswerten Sicherheit sagen, woher der vermehrte Zustrom stammt. Unsere Versuche zeigen, daß die Milz Depotblut ausschüttet. Eine Entspeicherung der Leber konnten wir nur vermuten, am narkotisierten Tier aber nicht nachweisen.

c) Die Herzwirkung.

Die Vergrößerung der Pulsamplitude bzw. die Berechnung des Schlagvolumens nach Wezler-Böger zeigt, daß ein wesentlicher Teil der anfallenden Mehrarbeit in ökonomischer Weise durch Vergrößerung des Schlagvolumens geleistet wird. Es ist anzunehmen, daß das Herz sich infolge des gesteigerten Vorhofdrucks in der Diastole stärker füllt.

In zweiter Linie wird die Steigerung des HMV durch Frequenzzunahme geleistet. Adrenalin-Psb hat eine direkte Frequenzwirkung, während bei Suprifen-Psb die Steigerung überwiegend reflektorisch bedingt ist. Da die „Güte" der Koronardurchblutung unter Suprifen-Psb sich nur wenig ändert, in einigen Versuchen sogar anhaltend zunimmt, gerät das Herz trotz dieser Mehrbelastung nicht in Sauerstoffmangel. Im EKG treten bei Patienten mit funktionellen koronaren Durchblutungsstörungen keine Zeichen einer Durchblutungsnot auf, bei anatomisch bedingter Koronarinsuffizienz kann es jedoch zu einer Senkung der ST-Strecke kommen (Ostwald[19]). Bei Adrenalin-Psb liegen die Verhältnisse wahrscheinlich weniger günstig.

Nach i.v. Injektion von Adrenalin-Psb beginnt die Blutdruckwirkung mit einigen Pulsationen von besonders großer Amplitude. Wir möchten annehmen, daß unter Verkleinerung der Restblutmenge einige sehr große Schlagvolumina ausgeworfen werden. Demnach würde aus dem Herzen selbst eine zusätzliche Blutmenge zur Verfügung gestellt, die den infolge der peripheren Dilatation gesteigerten Bedarf solange decken könnte, bis das mobilisierte Depotblut und der vermehrte Rückstrom aus der Peripherie eintreffen. Wir sehen dies als Ursache dafür an, daß der mittlere Blutdruck unter Adrenalin-Psb — bei gleicher Wirkung auf die Extremitätendurchblutung — weniger absinkt als unter Suprifen-Psb.

Durch Histamin und histaminartige gefäßerweiternde Stoffe wird zwar bei niedriger Dosierung gleichfalls das HMV gesteigert, aber trotz der nachgewiesenen Depotentleerung in geringerem Grade, da diesen Substanzen die sympathikomimetische Herzwirkung fehlt. Bei Suprifen-Psb und besonders bei Adrenalin-Psb sind Herzwirkung, Blutausschüttung und periphere Widerstandsabnahme günstig aufeinander abgestimmt. Das richtige Verhältnis scheint uns für die Steigerung des HMV wichtiger zu sein als die Stärke einer Teilwirkung.

4. *Effektives Druckgefälle.*

Selbst wenn die Steigerung des HMV zur Aufrechterhaltung des arteriellen Mitteldrucks nicht völlig ausreicht, braucht das effektive Druckgefälle nicht abzusinken, weil infolge der Vasodilatation die „Anfangsreibung" vermindert wird.

Wenn der periphere Widerstand nach dem OHMschen Gesetz aus Durchströmung und Druckgefälle errechnet wird, setzt man gewöhnlich das gesamte arteriovenöse Druckgefälle als für die Durchströmung effektiv ein. Das entspricht jedoch nicht den tatsächlichen Verhältnissen. Ein Teil des Drucks wird benötigt, um die kleinsten Gefäße zu eröffnen und eine Strömung überhaupt in Gang zu bringen (vgl. NOELL und SCHNEIDER[17, 18], KOWATZKY[13], BURTON[3]). Das gemessene arteriovenöse Druckgefälle ergibt erst nach Abzug dieses „Anfangsdrucks" das für die Durchströmung wirksame Druckgefälle. Deshalb vermindert sich bei einer Senkung des mittleren arteriellen Drucks das effektive Druckgefälle nicht in gleichem Ausmaß, wenn gleichzeitig der periphere Widerstand abnimmt.

Wenn es unter der Wirkung aralkylierter Sympathikomimetika zu einer Gefäßerweiterung kommt ohne wesentliches Absinken des arteriellen Mitteldrucks, wird demnach die periphere Durchströmung stärker gehoben, als es allein nach der Widerstandsabnahme zu erwarten wäre.

Obgleich manche Fragen offen bleiben müssen, können wir die Folge der Ereignisse folgendermaßen annehmen:

Bei i.v. Injektion z. B. von Adrenalin-Psb trifft die Substanz zunächst das Herz und veranlaßt es zu einer Verminderung seiner Restblutmenge. Dadurch wird die zirkulierende Blutmenge erhöht, noch bevor eine periphere Kapazitätszunahme eintritt. In der Peripherie löst die Substanz eine sympathikomimetische, inhibitorische Wirkung auf die Gefäße aus, besonders ausgeprägt im Haut- und Muskelgebiet, gar nicht oder nur geringfügig im Splanchnikusgebiet. Es entsteht eine starke Durchblutungszunahme besonders in den Extremitäten, die stärker ist, als es allein der Widerstandsabnahme entsprechen würde, weil durch die Dilatation die „Anfangsreibung" erniedrigt und damit das effektive Druckgefälle relativ vergrößert wird. Im allgemeinen fließt das vermehrt

der Peripherie zuströmende Blut rasch wieder zum Herzen zurück, immerhin ist, mindestens vorübergehend, ein „Wegschlucken" von Blut durch die Peripherie anzunehmen. Durch Mobilisierung von Depotblut wird die Kapazitätszunahme ausgeglichen.

Das erhöhte venöse Angebot wird vom Herzen durch Steigerung von Schlagvolumen und Frequenz bewältigt. Die Koronardurchblutung wird dem erhöhten Bedarf angepaßt.

Zusammenfassung.

Die periphere Kreislaufwirkung gefäßerweiternder aralkylierter Sympathikomimetika (besonders des Phenyl-sek. butyl-nor-Suprifens und des Phenyl-sek. butyl-nor-Adrenalins) wird mittels Durchblutungsmessungen mit der Reinschen Thermostromuhr analysiert.

1. Die auffälligste Wirkung ist eine erhebliche und langdauernde Mehrdurchblutung des Haut-Muskel-Gebietes, wobei die Muskulatur stärker beteiligt ist als die Haut. Die Kapazität des Gefäßsystems nimmt nur wenig zu. Die Wirkung der Substanzen wird mit der inhibitorischen Wirkung des Adrenalins auf die Extremitätengefäße verglichen.

2. Die Depotorgane, besonders die Milz, schütten Blut aus. Die Durchblutung von Darm, Niere und Uterus ändert sich nur wenig.

3. Die Koronardurchblutung nimmt stark zu.

4. Die Gehirndurchblutung wird gesteigert, jedoch in geringerem Ausmaß als die Extremitätendurchblutung.

5. Das Herzminutenvolumen (HMV) wird unter Vergrößerung des Schlagvolumens vermehrt. Als Ursache der HMV-Steigerung sind anzunehmen eine starke Herabsetzung des peripheren Widerstandes, eine Steigerung des venösen Angebots und eine Steigerung der Herztätigkeit. Die stärkere Wirkung des Adrenalin-Derivats auf das HMV wird auf dessen stärkere Herzwirkung zurückgeführt.

Infolge der HMV-Steigerung sinkt der arterielle Mitteldruck nur wenig ab, zudem wird durch die Vasodilatation die Anfangsreibung erniedrigt. Daher bleibt das effektive Druckgefälle auf ausreichender Höhe und hält für die Dauer der dilatierenden Wirkung eine Mehrdurchblutung aufrecht.

Literatur.

[1] Barcroft, H., u. O. G. Edholm: J. of Physiol. **104**, 161 (1945). — [2] Barcroft, H., u. O. G. Edholm: Lancet **1946**, 513. — [3] Burton, A. C.: Internat. Physiol. Kongress Kopenhagen 1950, Abstracts S. 139. — [4] Gollwitzer-Meier, Kl.: im Erscheinen. — [5] Gotsev, T.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 348 (1940); **197**, 469 (1940/41). — [6] Gross, F.: Helv. Physiol. Acta **7**, C_{43}—C_{44} (1949). — [7] Grosse-Brockhoff, F., M. Schneider u. W. Schoedel: Pflügers Arch. **237**,

178 (1936). — [8] v. ISSEKUTZ, B. jr.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 233 (1942). — [9] KAHLSON, G., u. O. MERTENS: Pflügers Arch. **237**, 699 (1936). — [10] KAISER: erscheint demnächst. — [11] KELLER, CH. J., A. LOESER u. H. REIN: Z. Biol. **90**, 260 (1930). — [12] KONZETT, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 41 (1940/41). — [13] KOWATZKY-COENDERS, U.: Inaugural-Diss. Köln 1947. — [14] KRAMER, K.: Abderhaldens Handb. d. biol. Arb.-Methoden Abt. V Teil 8 S. 1085. — [15] LEWIS, T., u. R. T. GRANT: Heart **12**, 73 (1925). — [16] MEIER, R., F. GROSS u. E. EICHENBERGER: Helv. Physiol. Acta **7**, 230 (1949). — [17] NOELL, W.: Pflügers Arch. **247**, 528 (1944). — [18] NOELL, W., u. M. SCHNEIDER: Pflügers Arch. **246**, 207 (1942). — [19] OSTWALD, E.: Med. Klinik **1950**, 733. — [20] REIN, H.: Erg. Physiol. **45**, 514 (1944). — [21] REIN, H.: Klin. Wschr. **1930/II**, 1485. — [22] REIN, H., u. M. SCHNEIDER: Z. Biol. **91**, 13 (1930). — [23] SCHAEFER, H.: Erg. Physiol. **46**, 71 (1950). — [24] WIEMERS, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 283 (1951).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 335—354 (1951).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. M. Schneider).

Über gefäßerweiternde Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe.

III. Mitteilung:
Allgemeine pharmakologische Untersuchungen.

Von
Kurt Wiemers.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Februar 1951.)

In den vorangegangenen Mitteilungen [44, 45] wurde über die Kreislaufwirkungen einer neuen, von Külz entwickelten Gruppe von Stoffen aus der Adrenalin-Benzedrin-Reihe berichtet, die sich von den bekannten Stammkörpern durch einen aliphatisch-aromatischen Rest an der Aminogruppe unterscheiden[23] und eine ausgesprochen gefäßerweiternde Wirkung haben.

Die folgenden Ausführungen behandeln die Toxizität einiger Verbindungen aus dieser Reihe und ihre Wirkungen auf das Froschherz und auf Organe mit glatter Muskulatur. Ferner werden pharmakologische Effekte angeführt, die den sympathikomimetischen Grundkörpern fehlen und erst mit der Einführung des Phenylrestes in Erscheinung treten.

Die chemischen Strukturformeln finden sich in der I. Mitteilung. Wir bezeichnen die sympathikomimetischen Grundkörper mit den bekannten Firmennamen und kürzen das für unsere Substanzen charakteristische Radikal — den an die Aminogruppe angehängten *P*henyl-*s*ek.-*b*utyl-Rest —$CH(CH_3)$—CH_2—CH_2—C_6H_5 — mit „-Psb" ab. Die Zusammensetzung der Bezeichnungen erfolgt ohne Rücksicht darauf, ob dieses Radikal ein H-Atom (bei primären Aminen wie Corbasil) oder eine CH_3-Gruppe (bei sekundären Aminen wie Adrenalin und Suprifen) ersetzt hat; die mit -Psb abgekürzten Verbindungen sind also sekundäre Amine*.

A. Toxizität.

(Gemeinsame Versuche mit cand. med. D. Jachnik, Dr. D. Kodlin und Dr. N. Ludwigs.)

Die Substanzen wurden, in etwa 1 cm^3 Flüssigkeit gelöst, weißen Mäusen unter die Rückenhaut injiziert. Die Käfigtemperatur betrug 24° C.

Suprifen-Psb, Adrenalin-Psb und Benzedrin-Psb unterscheiden sich in der Struktur des Grundskeletts. Bei den übrigen Verbindungen handelt es sich um

* Die geprüften Substanzen wurden uns von den Tropon-Werken Köln-Mülheim zur Verfügung gestellt; Suprifen-Psb ist unter dem Firmennamen „Dilatol" im Handel.

Varianten des Suprifen-Psb mit verkürzter aliphatischer Kette (Benzyl-nor-Suprifen), fehlendem Phenylrest (sek.butyl-nor-Suprifen) und um den Stammkörper Suprifen.

1. Suprifen-Psb. 6 Gruppen von je 6 Mäusen im Gewicht von 24,5 ± 0,3 g erhielten Einzeldosen von 135—180 mg/kg in geometrisch ansteigender Konzentration. Bei Ablesung nach 2 Std beträgt die statistisch ermittelte Dosis letalis 50

$$175 \pm 41 \text{ mg/kg.}$$

Vergiftungsbild. Nach Injektion niedriger Konzentrationen sind die Tiere anfangs erregt, später sitzen sie mit vertiefter und sehr frequenter Atmung ruhig in einer Käfigecke. Bei höheren Dosen folgen auf dieses Stadium Zuckungen der Extremitäten, bei letalen Dosen Drehbewegungen und Sprünge zur Käfigdecke. Der Exitus tritt unter Krämpfen in Rücken- oder Seitenlage ein.

Chronische Verabreichung: Anläßlich einer anderen Untersuchung (S. 346) erhielten Ratten tägliche Injektionen von 20 mg/kg Suprifen-Psb ($= {}^1/_{10}$ der an Mäusen ermittelten LD_{50}), die ohne Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes vertragen wurden.

2. Benzyl-nor-Suprifen. 8 Gruppen von je 6 Mäusen (Gewicht 24,1 ± 0,2 g) erhielten geometrisch ansteigende Dosen zwischen 220 und 330 mg/kg. Die LD_{50} beträgt nach 2 Std

$$300 \pm 83 \text{ mg/kg.}$$

Die Substanz ist mit 95% Sicherheitsschwelle 1,6—2,0mal weniger toxisch als Suprifen-Psb.

3. Adrenalin-Psb. Da Tiere anderer Zucht benutzt werden mußten, wurde zum Vergleich die Toxizitätsbestimmung von Suprifen-Psb mit einer kleineren Anzahl von Mäusen wiederholt.

Adrenalin-Psb

Dosis mg/kg	80	90	100	110	120	130
tot (nach 24 Std)	0	1	2	2	4	2
überlebend	2	5	2	2	0	0

Suprifen-Psb

Dosis mg/kg	170	200	210	220
tot (nach 24 Std)	0	1	3	6
überlebend	6	5	3	0

Adrenalin-Psb ist etwa 2mal toxischer als Suprifen-Psb.

Vergiftungsbild. Krämpfe und Hochspringen sind auch nach tödlichen Dosen selten zu beobachten. Während der Exitus nach Suprifen-Psb innerhalb 1 Std, bei höheren Dosen nach etwa 15 min eintritt, sterben die Tiere nach Adrenalin-Psb unter zunehmender Hinfälligkeit oft erst nach mehreren Stunden. Die Ablesung erfolgte deshalb bei dieser Versuchsserie erst nach 24 Std.

4. *Die LD_{50} von Benzedrin-Psb* liegt unter 150 mg/kg.

5. Sek. butyl-nor-Suprifen: Die LD_{50} liegt zwischen 500 und 600 mg/kg.

6. Suprifen (Hoechst). Unsere Ergebnisse an 14 Mäusen stimmen mit den Angaben der Herstellerfirma überein, wonach Dosen bis 800 mg/kg überlebt werden.

Verminderung der Adrenalin-Toxizität durch Suprifen-Psb.

Im Anschluß an Untersuchungen von Loew und Micetich[29] mit adrenolytischen und vasodilatierenden Substanzen haben wir geprüft, ob die weiße Maus durch Suprifen-Psb gegen eine letale Adrenalindosis geschützt wird. In unseren Kontrollversuchen führten 10 mg/kg Adrenalin (s.c. oder i.p. injiziert) spätestens innerhalb 40 min den Tod aller Versuchstiere herbei.

Tabelle 1. *Verminderung der Adrenalin-Toxizität bei der weißen Maus durch Suprifen-Psb (Ablesung nach 24 Std).*

Adrenalin mg/kg	Suprifen-Psb mg/kg	Zahl der Mäuse	davon gestorben	
6 s.c.	—	2	1	
8 „	—	6	2	
9 „	—	4	2	
10 „	—	5	5	innerhalb 15 min
10 „	20 s.c.	2	0	
15 „	30 „	5	1	nach 3 Std
10 i.p.	—	10	10	innerhalb 3—40 min
10 i.p.	40 s.c.	10	2	
10 „	20 „	10	2	
10 „	10 „	10	1	nach 1½—3 Std
10 „	5 „	10	5	
10 „	2,5 s.c.	10	4	nach 1—20 Std
10 i.p.	40 peros	10	2	nach 5—45 min
10 „	20 „ „	10	6	
10 „	10 „ „	10	9	nach 1—24 Std

Wir injizierten die gleiche Adrenalindosis 15 min nach prophylaktischer Gabe von Suprifen-Psb; erfahrungsgemäß ist die Kreislaufwirkung zu dieser Zeit maximal. Aus der Zusammenstellung der Versuchsergebnisse in Tab. 1 geht hervor, daß Suprifen-Psb in allen angewandten Dosen die Toxizität des Adrenalins abschwächt. Die wirksame Schwellendosis dürfte weniger als 5% der LD_{50} von Suprifen-Psb betragen.

B. Froschherz.

Die Versuche wurden vorwiegend im Winterhalbjahr mit männlichen und weiblichen Eskulenten durchgeführt. Mit Temporarien ergaben sich keine wesentlich abweichenden Ergebnisse. In einer weiteren Versuchsserie an frischgefangenen Herbstfröschen (Eskulenten) wurden zur Erzielung gleicher Wirkungen höhere Konzentrationen benötigt.

1. Suprifen-Psb.

a) STRAUB-*Herz.* Die *Hubhöhe* des Froschherzens an der STRAUBschen Kanüle wird durch Suprifen-Psb ab 1 : 500000 protrahiert gehemmt (Abb. 1a), bei 1 : 50000 kommt es nach wenigen Schlägen zum diasto-

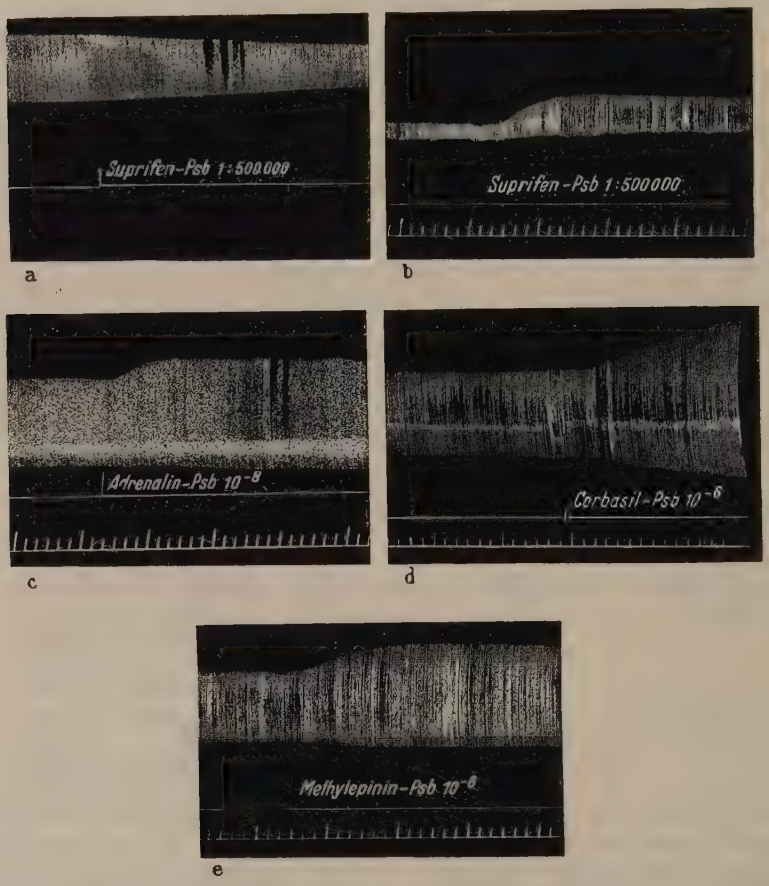


Abb. 1. Wirkung von Suprifen-Psb, Adrenalin-Psb, Corbasil-Psb und Methylepinin-Psb am Froschherzen nach STRAUB. b, d und e am ermüdeten Herzen nach längerer Versuchsdauer.

lischen Kammerstillstand. Die Hemmung wird bei niedrigen Konzentrationen und geringer Kanülenfüllung spontan überwunden und bei höheren Konzentrationen durch mehrmaliges Auswaschen rückgängig gemacht.

Nach der ersten Gabe von Suprifen-Psb in niedriger Konzentration (10^{-6} oder 1 : 500000) erfolgt manchmal eine geringe Zunahme der Hubhöhe. Besser lassen sich fördernde Wirkungen an Herzen zeigen, die

durch lange Versuchsdauer spontan — nicht aber durch vorangegangene Vergiftung mit Suprifen-Psb — insuffizient geworden sind (Abb. 1b). Nach VOGT[43] wird die erregende Komponente auch deutlich, wenn das Herz durch Azetylcholin gehemmt ist.

Die *Frequenz* wird am STRAUB-Herzen nicht wesentlich beeinflußt. Auf Konzentrationen von 1 : 100000 treten bei längerer Einwirkung Reizleitungsstörungen auf, meist in Form eines 2 : 1-Blocks.

b) *Umspülung des Herzens.* Die Frequenzwirkung des Suprifen-Psb läßt sich besser zeigen, wenn das uneröffnete Herz zwischen den Aorten und der Spitze in der Lösung suspendiert wird. Die Substanzen wirken dann bevorzugt auf den Sinus ein, und man kann Konzentrationen anwenden, die beim STRAUB-Herzen bereits durch Unterbrechung der Reizleitung zum Kammerstillstand führen. Ohne merkliche Beeinträchtigung der Hubhöhe bewirkt Suprifen-Psb in unseren Versuchen eine Frequenzabnahme auf die Hälfte, 1 : 2000 auf etwa $^1/_4$ des Ausgangswertes. Meist nimmt die Frequenz kontinuierlich ab bis zum diastolischen Stillstand, in anderen Versuchen treten ab 1 : 5000 Rhythmusstörungen (Bigeminus) auf.

c) *Durchströmung des Herzens in situ.*

Das Präparat wurde in Anlehnung an die von BÜLBRING[4] angegebene Methodik hergestellt und das Herzminutenvolumen (HMV) gleichzeitig mit der Hubhöhe in folgender Anordnung registriert:

Die zuführende Kanüle wird in die V. cava inf., die ableitende in den linken Aortenbogen eingeführt; die rechte Aorta und die oberen Hohlvenen werden unterbunden. Von der Aortenkanüle führt ein dünner Schlauch in ein kleines abgeschlossenes Gefäß, aus dem die Luft in eine MAREYsche Kapsel verdrängt wird. Wenn die Abmessungen dieses Gefäßes und die Empfindlichkeit der volumregistrierenden Kapsel passend gewählt sind, zeichnen sich die einzelnen Schlagvolumina als Treppenstufen auf. Im Abstand von ½ oder 1 min wird durch zwei Elektromagnete das Auffanggefäß und die MAREYsche Kapsel geöffnet, so daß die vom Herzen geförderte RINGER-Lösung abfließt und der Registrierhebel zur O-Linie zurückkehrt. Die Eichung erfolgt mit einer 2 cm^3 Tuberkulinspritze.

Zu- und Abflußdruck sind veränderlich. Der Widerstand, gegen den das Herz arbeitet, wurde meist konstant bei 120 mm H_2O gehalten und der Zuflußdruck im allgemeinen nicht über 80 mm H_2O gesteigert, um eine Schädigung durch Überdehnung des Vorhofs zu vermeiden. Die Konstanthaltung des Drucks beim Umschalten auf ein anderes Zuflußgefäß wird erleichtert, wenn die Lösungen zunächst in einen offenen Überlauftrichter eintropfen. Der dann für den Zuflußdruck maßgebende obere Rand des Trichters muß flach ausgebildet und gut gesäubert sein, damit sich kein Flüssigkeitsmeniskus von wechselnder Höhe ausbilden kann.

Zur Registrierung der Hubhöhe wird die Herzspitze in üblicher Weise suspendiert. Der Faden läuft über eine Rolle, damit das Herz nicht zu stark aus seiner natürlichen Achsenrichtung gebracht wird, wodurch der Abfluß an der Spitze der Aortenkanüle behindert werden könnte. Um eine Austrocknung des Herzens zu vermeiden, liegt der Frosch enthäutet in einem Gefäß mit RINGER-Lösung.

Ergebnisse am nichtgeschädigten Herzen:

Die Hubhöhe verhält sich ebenso wie am STRAUB-Herzen, dagegen nimmt die Frequenz stets ab, und zwar umso stärker, je höher die Ausgangsfrequenz war (z. B. auf Suprifen-Psb 1 : 250000 von 47/min auf 35/min). Die Überleitungszeit wird deutlich verlängert, bei der

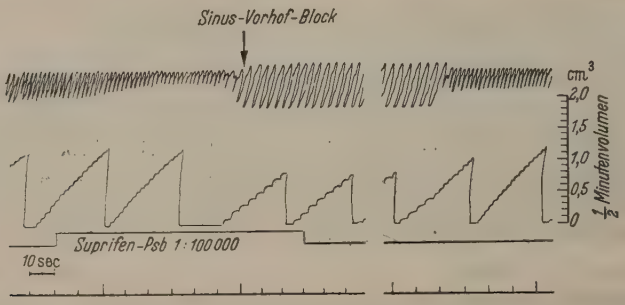


Abb. 2a.

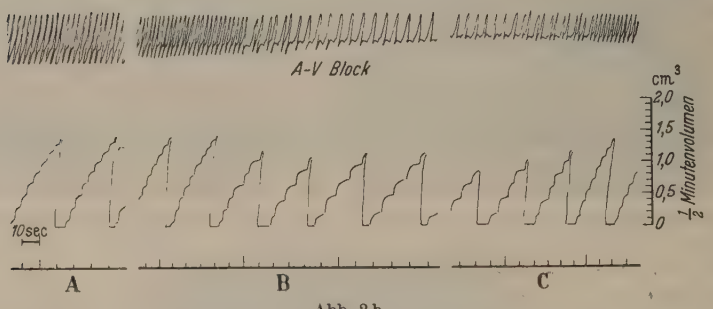


Abb. 2b.

Abb. 2a u. b. Durchströmung des Froschherzens in situ. — Im Versuch *a* kommt es unter Suprifen-Psb 1:100000 zunächst zu einer Abnahme der Hubhöhe, dann zu einem 2:1 Block zwischen Sinus und Vorhof, wobei die Hubhöhe unter Vergrößerung des Schlagvolumens *zu*nimmt. — Versuch *b*: Zwischen *A* und *B* wurde auf Suprifen-Psb 1:100000 umgeschaltet. Diesmal entsteht ein *A* — *V*-Block, wobei gleichfalls das Schlagvolumen stark zu, die Hubhöhe aber weiter *ab*nimmt. Zwischen *B* und *C* Rückschalten auf RINGER-Lösung; die Überleitungsstörung ist reversibel.

Konzentration 10^{-5} kommt es nach längerer Einwirkungsdauer regelmäßig zu einem partiellen Block zwischen Sinus und Vorhof oder zwischen Vorhof und Kammer, der reversibel ist.

BÜLBRING[4] hat bereits darauf hingewiesen, daß HMV und Hubhöhe sich bei dieser Anordnung nicht gleichsinnig ändern. Wenn das HMV durch stufenweise Erhöhung des Zuflußdrucks gesteigert wird, nimmt in unseren Versuchen die Hubhöhe regelmäßig ab. Offenbar verkleinert sich das Herz bei stärkerer diastolischer Füllung mehr in Quer- als in Längsrichtung. Ähnliche Veränderungen sind zu beobachten, wenn — bei gleichbleibendem Zuflußdruck — von reiner RINGER-Lösung auf eine Suprifen-Psb-Lösung 1 : 500000—1 : 200000 umgeschaltet wird: die Hubhöhe wird stark verkleinert, das HMV dagegen bleibt gleich oder nimmt nur wenig ab. Da die Frequenz gleichzeitig vermindert wird, geht die Abnahme der

Hubhöhe einher mit einer Vergrößerung des Schlagvolumens. Bei höheren Konzentrationen nimmt das HMV und schließlich auch das Schlagvolumen ab, aber stets relativ weniger als die Hubhöhe.

Merkwürdigerweise verhielt sich in unseren Versuchen beim Auftreten von Überleitungsstörungen (2 : 1-Block) die Hubhöhe je nach dem Sitz der Störung verschieden, obwohl das Schlagvolumen in beiden Fällen gleichermaßen um etwa 60% anstieg. Durch einen AV-Block wurde die Hubhöhe kaum beeinflußt bzw. sie nahm weiter ab wie vor dem Eintritt der Störung; bei einem Sinus-Vorhofsblock wurde sie nahezu verdoppelt (Abb. 2a u. b).

In einigen Versuchen haben wir bei sonst gleicher Methodik Suprifen-Psb nicht der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, sondern nach KISCH[20] mit einem Filterblättchen außen auf den Sinus aufgebracht (Konz. 1 : 2000). Die Frequenz

Abb. 3. Am Pernocton-geschädigten Herzen wirkt Suprifen-Psb in der Konzentration 1:500000 hemmend, während Adrenalin-Psb 10^{-8} Hubhöhe und Herzminutenvolumen vergrößert.

sinkt dann erheblich, aber gleichmäßig und ohne Auftreten von Überleitungsstörungen ab. Das Schlagvolumen nimmt stark zu und das HMV steigt wenig, aber deutlich an; die Hubhöhe ändert sich nicht merklich.

Ergebnisse am künstlich insuffizient gemachten Herzen:

Nach Einstellung des Zuflußdrucks auf ein submaximales Minutenvolumen wurde die schädigende Substanz in solcher Konzentration der RINGER-Lösung zugesetzt, daß das HMV auf etwa die Hälfte abnahm.

Auf *Pernocton*zusatz (0,1 cm^3 1 : 500 in den Zuführungsschlauch injiziert) nehmen Hubhöhe, Minutenvolumen und Frequenz stark ab; unter reiner RINGER-Lösung erreicht die Hubhöhe in wenigen Minuten wieder den Ausgangswert, an der Förderleistung gemessen ist die Erholung jedoch unvollständig. Wird Suprifen-Psb 1 : 500000 zugesetzt, so nehmen Hubhöhe und HMV deutlich ab (Abb. 3).

Ähnliche Ergebnisse werden erhalten, wenn das Herz mit *Chloralhydrat*-RINGER-Lösung 1 : 5000 durchströmt wird.

Aconitin verursacht ab 10^{-11} eine erhebliche Verminderung des HMV, während die Hubhöhe gleichzeitig *zu*nimmt. Suprifen-Psb 10^{-6} oder 1 : 500000 vermag in solchen Fällen die Hubhöhe manchmal noch

weiter zu steigern, aber nicht die Förderleistung zu verbessern; zuweilen trifft das gleiche für Adrenalin 10^{-6} zu. Höhere Konzentrationen von Suprifen-Psb vermindern auch die Hubhöhe.

2. Adrenalin-Psb.

Die Wirkung von Adrenalin-Psb auf das STRAUB-Herz wurde von LANGE[28] eingehend geprüft. Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} wirken positiv inotrop und chronotrop, bei höheren Konzentrationen treten Rhythmusstörungen und Kammerstillstand ein. Die Wirkung ist vergleichbar mit derjenigen des Adrenalins, an der Hubhöhe gemessen jedoch 10mal stärker. Bei wiederholten Gaben hat zunächst die Wirkung auf die Hubhöhe kürzere Dauer, später nimmt die Wirkung auch größerer Dosen in ihrer Gesamtheit ab bzw. wird in eine Hemmung umgekehrt. In diesem Stadium wirkt Adrenalin ebenfalls hemmend (nähere Ausführungen zu diesem Mechanismus siehe LANGE[28]).

In den eigenen Versuchen wurden diese Angaben bestätigt. Im Gegensatz zu Suprifen-Psb wirkte Adrenalin-Psb bei spontaner wie bei künstlicher Insuffizienz nach Pernocton-, Chloralhydrat- und Aconitinvergiftung stets fördernd; Hubhöhe und HMV wurden vergrößert (Abb. 3).

3. Andere Psb-Derivate.

Die weiteren Aralkyle aus der Adrenalin-Benzedrin-Reihe wurden nur an frisch gefangenen Herbstfröschen (Eskulenten) verglichen, deren Herzen erst auf relativ hohe Konzentrationen und dann vorwiegend mit Hemmung reagierten, und zwar auf: Adrenalin-Psb ab 1 : 50000, Corbasil-Psb ab 1 : 500000, Methylepinin-Psb ab 1 : 100000, Suprifen-Psb ab 1 : 100000, Veritol-Psb ab 1 : 500000, Ephedrin-Psb ab 10^{-6} (in späteren Versuchsstadien bereits ab 10^{-8}) und auf Benzedrin-Psb ab 1 : 500000.

Die Frequenz wurde beim STRAUB-Herzen durch Methylepinin-Psb um wenige Schläge/min gesteigert, durch Benzedrin-Psb geringfügig vermindert und durch die übrigen Substanzen nicht eindeutig verändert.

Beim insuffizienten Herzen ließ sich eine Förderung der Hubhöhe durch Corbasil-Psb und Methylepinin-Psb nachweisen, unter gleichzeitiger Steigerung der Frequenz (Abb. 1d und e).

C. Glatte Muskulatur des Kaltblüters.

1. Froschlunge.

Die glatte Muskulatur der Froschlunge wurde wegen ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber Azetylcholin als Testobjekt bekannt[10, 1, 2]. Da sie in manchen pharmakologischen Reaktionen mit der Bronchialmuskulatur des Warmblüters übereinstimmt[19], haben wir sie in erster Orientierung zur Prüfung broncholytischer Wirkungen herangezogen.

Nach der von BRECHT, CORSTEN und LULLIES[2] angegebenen Methodik registrierten wir die Längenänderung der Lunge. Das in einem kleinen Gefäß suspendierte Organ wird dabei fortlaufend mit RINGER-Lösung umspült, so daß ein Flüssigkeitswechsel ohne mechanische Erschütterung möglich ist. Gegenüber der

Durchströmung des Lungengefäßsystems[3, 19] hat dies einfachere Präparat den Nachteil geringerer Empfindlichkeit und trägerer Reaktion.

Die auch von anderen Froschorganen bekannten jahreszeitlichen Schwankungen der Reaktionsweise machen sich bei der Lunge sehr störend bemerkbar. Der Kurvenablauf des sich selbst überlassenen Präparats ändert sich nahezu von Monat zu Monat, indem der Tonus bald mehr steigende und bald mehr fallende Tendenz hat und die Spontankontraktionen sich in Größe, Form und Frequenz unterscheiden. Gleichzeitig ändert sich die Reaktion auf pharmakologische Reize hinsichtlich Schwellenkonzentration, Größe und Steilheit der Ausschläge und Wirkungsdauer. Eine quantitative Auswertung ist nach unseren Erfahrungen nur möglich durch den gleichzeitigen Kreuzversuch an rechter und linker Lunge des gleichen Tieres, deren Ausschläge zumindest in der relativen Höhe recht exakt übereinstimmen. Solche Versuche sind zeitraubend und mit größeren Substanzreihen kaum durchzuführen. Wir haben uns meist auf einen qualitativen Vergleich bei bestimmten Verdünnungen beschränkt. Gemessen an Warmblüterorganen war die Empfindlichkeit der Froschlunge gegenüber unseren Substanzen bei der angewandten Methodik gering.

a) Suprifen-Psb. Lösungen von 10^{-5} bis 1 : 5000 bringen die Froschlunge zur Kontraktion (Abb. 4). Etwa vorhandene Spontanbewegungen bleiben unter niedrigen Konzentrationen häufig erhalten, bei stärkerer Verkürzung der Lungen werden sie unterdrückt. Eine Tonushemmung war im März unter Suprifen-Psb 10^{-5} bis 1 : 20000 zu beobachten; während der anderen Versuchsmonate ist uns der Nachweis hemmender Wirkungen nicht geglückt, schwächere Lösungen als 10^{-5} waren wirkungslos.

Verschiedene Derivate des Suprifen-Psb mit kürzerem oder längerem aliphatischen Teil der N-Nebenkette ergaben gleichlautende Ergebnisse. Untereinander sind diese Kurven oft sehr verschieden, sie stimmen aber mit den auf Suprifen-Psb erhaltenen Kontrollkurven so weitgehend überein, daß eine nähere Differenzierung nicht möglich ist.

b) Auf *Adrenalin-Psb* reagiert die Lunge in allen wirksamen Konzentrationen mit Erschlaffung (10^{-6} bis 10^{-2}). Die Wirkung ist ähnlich der des Aludrins, aber etwas schwächer.

c) Von den *weiteren aralkylierten* Verbindungen der Reihe wirken: Corbasil-Psb (1 : 20000) hemmend wie Adrenalin-Psb, Methylepinin-Psb erregend wie Suprifen-Psb, und Ephedrin-Psb ist in den geprüften Konzentrationen (1 : 500000 bis 1 : 50000) ohne sichere Wirkung.

d) *Bekannte Sympathikomimetika.* Adrenalin hemmt ab 1 : 500000, Aludrin in Übereinstimmung mit den Angaben von Kadatz[19] noch in etwa 10fach schwächerer Konzentration. Sympatol 1 : 20000 ist ohne Effekt, in der Verdünnung 1 : 5000 hemmt es. Suprifen ist wirkungslos, ebenso Ephedrin (1 : 200000 und 1 : 20000), welches in einigen Versuchen im Mai sogar kontrahierte. Dagegen erschlafft die Lunge stark auf Veritol (1 : 20000).

e) Das vom Papaverin abgeleitete *Sestron*[22] wirkt in Lösungen 1 : 100000 und 1 : 50000 erschlaffend, 1 : 2000 und 1 : 1000 kontrahierend (beim Menschen wirkt Sestron broncholytisch[30]).

f) *Histamin* (10^{-5} und 10^{-4}) bringt in unseren Versuchen die Lunge zu mäßig starker Kontraktion. —

Zum Wirkungsmechanismus. Durch Vorbehandlung mit Atropin wird in unseren Versuchen die erregende Wirkung von Suprifen-Psb nicht aufgehoben (Abb. 4).

Nach vorangegangenen Gaben von Suprifen-Psb oder Ephedrin-Psb wirkt Adrenalin 10^{-5} häufig nicht mehr hemmend, sondern erregend. Bei häufig wiederholter Anwendung läßt die Wirkung von Adrenalin und Aludrin auch ohne Vorbehandlung nach, und an der isolierten Warmblüterlunge sind unter ähnlichen Bedingungen Umkehreffekte beschrieben[5,15].

Die Ergebnisse zeigen, daß die glatte Muskulatur der Froschlunge sich in ihren Reaktionen gegenüber sympathikomimetischen Substanzen

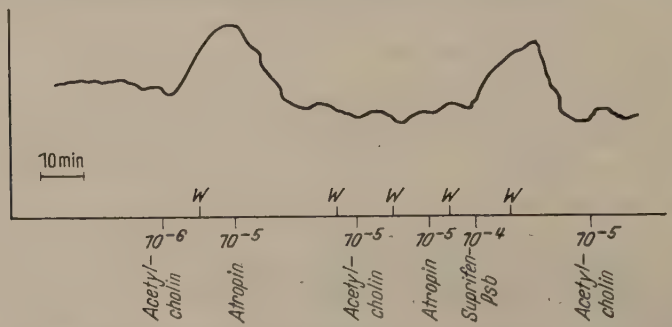


Abb. 4. Die Froschlunge kontrahiert sich gewöhnlich unter Suprifen-Psb. Durch Vorbehandlung mit Atropin wird die Kontraktion nicht verhindert.

von der Bronchialmuskulatur des Warmblüters graduell unterscheidet, indem sie durchweg mehr zur Kontraktion neigt; bei der Adrenalingruppe wird dies Verhalten erst nach Vorbehandlung mit Substanzen deutlich, die ihrerseits mehr exzitatorischen Charakter haben. — Beim Menschen hat Suprifen-Psb in der üblichen therapeutischen Dosierung offenbar keine Bronchialwirkung, während wir mit Adrenalin-Psb beim Asthmatiker günstige Effekte gesehen haben.

2. Froschmagen.

Die Versuche wurden in den Monaten Juni/Juli mit Eskulenten durchgeführt. Der ganze Magen wurde wie ein Darmstück in RINGER-Lösung suspendiert.

a) Suprifen-Psb 1 : 20000 bewirkt eine rasch einsetzende und dann plateauartig verlaufende Tonussteigerung. Die Spontanbewegungen werden frequenter und nehmen an Höhe ab (in Oktoberversuchen wurden sie nicht beeinflußt). Lösungen unter 1 : 100000 sind in unseren Versuchen wirkungslos, Hemmung ist nicht zu beobachten. — Durch den Stammkörper Suprifen (1 : 20000) wird gleichfalls der Tonus gesteigert.

Das Froschrektum hat eine höhere Empfindlichkeit. Suprifen-Psb-Lösungen unter 1 : 2 Mill. hemmen, stärkere erregen (VOGT[43]).

Den von Vogt[43] am Froschrektum erhobenen Befund, daß Adrenalin nach Suprifen-Psb oft nicht mehr hemmt, sondern erregt, konnten wir am Magen bestätigen.

b) Adrenalin-Psb wirkt ab 10^{-6} hemmend, wobei die Frequenz der Spontankontraktionen häufig zunimmt. Die Wirkung ist stärker und von längerer Dauer als die einer Adrenalin-Lösung gleicher Konzentration, nimmt aber bei wiederholten Gaben ab.

c) Methylepinin-Psb (1 : 20000) steigert den Tonus, ohne die Größe der Spontanbewegungen zu vermindern. Das Kurvenbild zeigt gegenüber Suprifen-Psb einen steileren Anstieg und kürzere Wirkungsdauer.

3. Iris des Froschauges.

Am isolierten Bulbus wird die Pupille durch Suprifen-Psb 1 : 50000 erweitert.

D. Glatte Muskulatur des Warmblüters.

1. Rattenuterus.

Suprifen-Psb 10^{-10} bis 1 : 200000 senkt den Tonus des nichtgraviden Rattenuterus und hemmt die Spontankontraktionen. Lösungen von

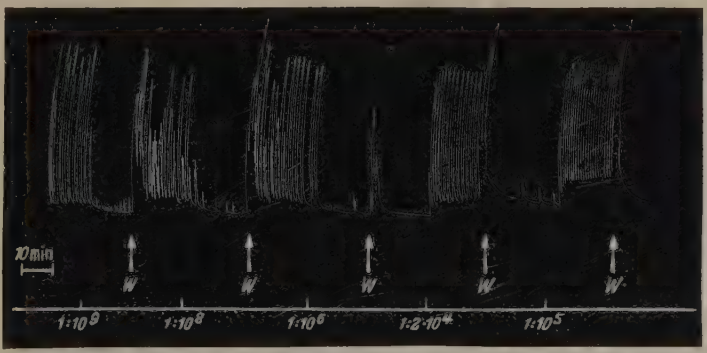


Abb. 5. Wirkung von Suprifen-Psb auf den Rattenuterus: in niedrigen Konzentrationen Hemmung, in hoher Erregung. W = 2mal auswaschen.

10^{-5} bis 10^{-4} fördern Hubhöhe und Frequenz der automatischen Kontraktionen und steigern den Tonus (Abb. 5).

Adrenalin-Psb hemmt Tonus und Spontanbewegungen ab 1 : 2 Milliarden; es wirkt 10mal stärker als Adrenalin (Lange[28]).

2. Rattendünndarm.

Suprifen-Psb (10^{-6} bis 10^{-4}) hat nur inhibitorischen Effekt. Die aralkylierten Suprifen-Derivate mit kürzerer aliphatischer N-Nebenkette wirken qualitativ gleich, quantitativ schwächer; doch sind die ersten Glieder dieser Reihe (N-benzyl-nor-Suprifen und *N*-[methyl-

benzyl]-nor-Suprifen) ebenso wie der Stammkörper Suprifen in der Konzentration 1 : 20000 ohne deutliche Wirkung.

Adrenalin-Psb vermindert den Tonus ab 10^{-9}, die Spontanbewegungen ab 10^{-6}. Seine Wirkung ist etwa 10mal stärker als die des Adrenalins, qualitativ unterscheidet sie sich durch allmähliches Einsetzen und längere Dauer der Wirkung (LANGE[28]).

3. Meerschweinchendünndarm.

In den untersuchten Konzentrationen (1 : 500000 bis 1 : 20000) senkt Suprifen-Psb den Tonus.

4. Samenblase des Meerschweinchens.

Suprifen-Psb hat in den geprüften Konzentrationen (10^{-9} bis 10^{-6}) keine Eigenwirkung, stärkere Konzentrationen fördern mitunter die Spontankontraktionen, ohne den Tonus zu verändern. Durch Suprifen-Psb 10^{-6} wird die kontrahierende Wirkung einer Adrenalin-Lösung 10^{-6} — in gleicher Weise wie durch Hydergin 10^{-8} — um etwa 80% vermindert. Dieser blockierende Effekt läßt sich abgeschwächt auch nach mehrmaligem Auswaschen noch nachweisen.

Adrenalin-Psb hemmt erst in höheren Konzentrationen (1 : 500000 und darüber) die Adrenalinwirkung in gleicher Stärke; nach einmaligem Auswaschen ist kein Effekt mehr nachzuweisen.

E. Sonstige pharmakologische Wirkungen.

1. Lokalanästhesie.

Durch die Untersuchungen von SCHAUMANN[39] und HAUSCHILD[14] ist bekannt, daß sympathikomimetische Amine (Ephedrin, Benzedrin), die an der Aminogruppe mit einem Benzylrest substituiert sind, lokalanästhetisch wirken. Wie nach diesen Befunden zu erwarten war, haben alle von uns geprüften aralkylierten Derivate einen lokalanästhetischen Effekt, dessen Stärke in gewissem Ausmaß durch die Länge des aliphatischen Anteils des Radikals mitbestimmt wird.

2. Prüfung auf oestrogene Wirkung.

Klinische Beobachtungen über eine erfolgreiche Unterstützung der Hormontherapie der Amenorrhoe durch Suprifen-Psb gaben den Anlaß zu einer Prüfung auf oestrogene Wirkung im ALLEN-DOISY-Test. Die chemische Struktur des Suprifen-Psb weist zwar — mit Ausnahme der obligaten Oxyphenylgruppe[11] — kaum eine Ähnlichkeit zu bekannten oestrogenen Stoffen auf; anderseits gab aber die geringe Wirkung des Suprifen-Psb auf die Uterusdurchblutung im akuten Tierversuch[45] keinen Anlaß, ohne weitere Prüfung die Kreislaufwirkung der Substanz für den Effekt verantwortlich zu machen.

a) Fünf virginelle Ratten (Gewicht um 38 g) erhielten 3 Wochen hindurch tägliche s.c. Injektionen von 20 mg/kg Suprifen-Psb. Verhalten, Futteraufnahme und Gewichtszunahme der Tiere waren normal. Im Vaginalabstrich trat eine Oestrusreaktion erst beim Überschreiten eines Gewichts von 100 g auf. Die Tiere unterschieden sich hierin nicht von den Kontrollen.

b) In einer zweiten Versuchsserie wurde geprüft, ob eine etwa vorhandene, sehr schwache Brunstwirkung, die für sich allein zur Umwandlung der Scheiden-

schleimhaut nicht ausreicht, sich mit unterschwelligen Dosen eines Stilben-Derivats zur vollen Wirkung addieren ließe.

36 infantile Ratten im Gewicht von etwa 50 g erhielten nach dem Vorgehen von GRAB[13] an 3 aufeinanderfolgenden Tagen insgesamt 0,2γ Cyren B* pro Tier (in 6 Portionen je 0,1 cm³ öliger Lösung). Wie sich in unseren Versuchen bestätigte, ruft diese Dosis bei 20—50% der Versuchstiere einen Oestrus hervor. Jede zweite Ratte erhielt zusätzlich 11 Tage lang 2mal 10 mg/kg Suprifen-Psb täglich. Oestrusreaktionen im 3mal täglich abgestrichenen Vaginalsekret waren bei diesen Tieren nicht häufiger als bei den Kontrollen.

Die Versuche geben für eine oestrogene Wirkung von Suprifen-Psb keinen Anhalt und vermögen die klinischen Beobachtungen nicht zu erklären. Sie haben als Nebenbefund gezeigt, daß die Ratte tägliche Injektionen der 200fachen therapeutischen Dosis ($= {}^1/_{10}$ der LD_{50} bei der Maus) über 2—3 Wochen ohne sichtbare Beeinträchtigung verträgt.

3. Blutzucker.

Suprifen-, Corbasil- und vor allem Adrenalin-Psb haben in therapeutischen Dosen eine starke glykolytische Wirkung, während Methylepinin- und Ephedrin-Psb den Blutzucker praktisch nicht steigern. Optimale Konfiguration der N-Nebenkette ist ebenso wie für die Kreislaufwirkung die Phenyl-sek.butyl-Gruppe. Die Stereoisomeren bewirken in gewisser Dosierung zum Teil eine mäßige Senkung des Blutzuckerspiegels (JACHNIK[18], RÖSSEL[36], SAUERWEIN[37], SCHNELLBÄCHER[40]).

4. Magensaft.

Suprifen-Psb hat eine dem Grundkörper nicht eigene Wirkung auf die Drüsensekretion des Magens. Sie zeigt sich in einer Steigerung der Sekretmenge und einer Zunahme der Säureproduktion, die im Gegensatz zu Histamin auch bei peroraler Gabe eintreten. 20—30 mg Suprifen-Psb in 50 cm³ Wasser zeigen eine dem Koffeinprobetrunk ähnliche Wirkung (OSTWALD[34]).

Die Magen- und Darmmotilität erfährt bei Hypaciden gleichzeitig eine Anregung, was sich bei vegetativ Labilen gut beobachten läßt, ohne zu störenden Erscheinungen zu führen (OSTWALD[34]).

Iso-Suprifen-Psb und Adrenalin-Psb wirken im gleichen Sinne auf die Magensaftsekretion (COERDT[8]).

Besprechung der Ergebnisse.

A. Toxizität.

Obwohl die letalen Dosen nur für einige Substanzen unserer Reihe bestimmt wurden, bestehen in verschiedener Hinsicht Vergleichsmöglichkeiten:

1. Bei den Suprifen-Derivaten (Suprifen, Sek.butyl-nor-Suprifen und Suprifen-Psb) nimmt die Toxizität mit steigendem Molekular-

* Für die Überlassung von Substanz und Literatur sind wir der Fa. BAYER zu Dank verpflichtet.

gewicht der N-Nebenkette *zu*. Auch bei den aliphatisch substituierten Verbindungen der Sympatol-[42, 27], Adrianol-[42] und Ephedringruppe[7] steigt die Giftigkeit mit der Kettenlänge.

Dagegen sind bei den alkylierten Benzedrin-[14] und Arterenol-[21, 26, 32] Derivaten die höheren Homologen weniger toxisch (eine Ausnahme bilden die ersten Glieder der Arterenolreihe: l-Adrenalin ist toxischer als l-Arterenol[17]). Das aralkylierte Derivat Adrenalin-Psb fügt sich in diese Reihe ein; es weist nur $^1/_{10}$ der Giftigkeit des Adrenalins auf, obgleich es dem Adrenalin bezüglich der Schwellendosis der Kreislaufwirkung nicht nachsteht und ihm in sonstigen sympathikomimetischen Wirkungen zum Teil erheblich überlegen ist.

Weshalb die Verlängerung der N-Nebenkette teils mit einer Zunahme und teils mit einer Abnahme der Toxizität einhergeht, läßt sich mit der Blutdruckwirkung der Substanzen nicht begründen.

2. Die Verbindungen mit gleicher N-Nebenkette (-Psb), aber verschiedenem Grundskelett (Adrenalin-Psb, Suprifen-Psb und Benzedrin-Psb) ordnen sich ihrer Toxizität nach wie die pressorischen Grundkörper; unter diesen hat Suprifen gleichfalls eine relativ geringe Toxizität, und nach beiden „Enden" der Adrenalin-Benzedrin-Reihe hin nimmt die Giftigkeit zu.

3. Die Funktion des zweiten Benzolringes geht aus der Gegenüberstellung von Sek.butyl-nor-Suprifen und Suprifen-Psb hervor: durch den Phenylrest wird die Wirkungsstärke 50fach, die Toxizität aber nur etwa 5fach gesteigert. Wie die Tab. 2 zeigt, nimmt auch bei den anderen

Tabelle 2. *Vergleich zwischen Toxizität und Kreislaufwirkung.*

Substanz	Dosen gleicher Toxizität (LD_{50} bei der Maus s.c.) mg/kg	Dosen gleicher Kreislaufwirkung (Senkung des P_d beim Hund von 100 auf 60 mm Hg) mg/kg	$\frac{\text{letale Dosis}}{\text{wirksame Dosis}}$
Adrenalin-Psb	$\sim$ 100	0,002	$\sim$ 50 000
Suprifen-Psb	175	0,1	1 750
Benzedrin-Psb	$<$ 150	5,0	$<$ 30
Benzyl-nor-Suprifen . . .	300	5,0	60
Sek. butyl-nor-Suprifen . .	$<$ 600	5,0	$<$ 120
Suprifen.	$>$ 800	0,5*	$>$ 1600

* Für den Vergleich von Suprifen mit Suprifen-Psb sind, ungeachtet der entgegengesetzten Blutdruckwirkung, die üblichen therapeutischen Dosen zugrunde gelegt.

aralkylierten Substanzen der Quotient aus letaler und kreislaufwirksamer Dosis mit der allgemeinen Wirkungsstärke zu, ohne daß diese errechnete Größe (sogenannte therapeutische Breite) auch für die Verträglichkeit im therapeutischen Dosierungsbereich maßgebend wäre.

4. Nach den Untersuchungen von Loew und Micetich[29] gelingt es, durch Sympathikolytika und stark gefäßerweiternde Substanzen (z. B. Mecholyl) die Adrenalin-Toxizität abzuschwächen; Papaverin und Natriumnitrit sind ohne Effekt. Eine gewisse sympathikolytische Wirkung von Suprifen-Psb läßt sich zwar nachweisen, doch glauben wir eher die direkte gefäßerweiternde Wirkung für den Schutzeffekt gegenüber tödlichen Adrenalindosen verantwortlich machen zu können.

B. Froschherz.

Wie bei den pressorischen Stammkörpern geht auch bei den aralkylierten Derivaten die erregende Herzwirkung um so mehr in eine lähmende über, je weiter sich der chemische Bau des Grundskeletts von der Struktur des Adrenalins entfernt, während umgekehrt die inhibitorischen Gefäßwirkungen zurücktreten gegenüber den vasokonstriktorischen.

Die Bedeutung der Psb-Nebenkette für die Herzwirkung ist bei diesen Substanzen offenbar nicht einheitlich; Adrenalin-Psb wirkt 10mal stärker erregend als Adrenalin, aber Suprifen-Psb stärker hemmend als Suprifen. Die Hemmung betrifft Reizbildung, Erregungsleitung und Kraft der Kontraktion, und es hängt von der Untersuchungsmethodik ab, an welchem System sie stärker sichtbar wird. Es ist auffallend, daß eine Förderung der Hubhöhe einerseits bei frischen Herzen und anderseits bei Spontaninsuffizienz zu beobachten ist, aber nicht bei künstlich gesetzten Insuffizienzen.

Vergleich mit den Ergebnissen am Warmblüter.

1. Suprifen-Psb. Die im Blutdruckversuch erkennbare Erhöhung der Pulsfrequenz ist überwiegend nervös-reflektorisch und die Zunahme des Schlagvolumens durch Venendrucksteigerung infolge Depotentleerung bedingt; hemmende Wirkungen kommen im therapeutischen Dosierungsbereich wohl nur in einer gelegentlichen Verminderung des Sauerstoffverbrauchs des Herzens zum Ausdruck. Vielleicht liegt der sehr protrahiert verlaufenden Förderung der Hubhöhe, die wir zuweilen am Froschherzen bei Anwendung extrem niedriger Konzentrationen beobachten konnten, eine ähnliche ökonomisierende Stoffwechselwirkung zugrunde.

2. Adrenalin-Psb. Da das Wirkungsverhältnis Suprifen-Psb : Adrenalin-Psb im Blutdruckversuch 1 : 50, am Froschherzen aber 1 : 1000 beträgt, sind bei der therapeutischen Anwendung von Adrenalin-Psb direkte Herzwirkungen eher zu erwarten. Zur Deutung der Kreislaufeffekte von Adrenalin-Psb (siehe I. und II. Mitteilung[44, 45]) mußten wir direkte Wirkungen auf Frequenz und Kontraktilität des Herzens annehmen, die inzwischen durch Untersuchungen am denervierten Herz-Lungen-Präparat bestätigt wurden (Gollwitzer-Meier[12]).

C. Glatte Muskulatur.

Die aralkylierten Sympathikomimetika wirken ähnlich den pressorischen Grundkörpern an Organen mit glatter Muskulatur teils hemmend, teils fördernd. Um die Ergebnisse in einen allgemeineren Rahmen zu fassen, haben wir in Tab. 3 die Reaktionen einiger Organe auf verschiedene Sympathikomimetika zusammengestellt, größtenteils nach Angaben der Literatur.

In der linken oberen Ecke der Tabelle finden sich nur hemmende Effekte, und zur rechten unteren Ecke hin sind zunehmend fördernde Effekte anzutreffen. Während die angeführten Organe in dieser Absicht, aber vorerst ohne sonstigen höheren Gesichtspunkt geordnet wurden, läßt sich in der Reihenfolge der Substanzen eine Ordnung nach konstitutionschemischen Prinzipien erkennen:

Sie betrifft einmal die Struktur des Grundskeletts; die Adrenalin-Derivate stehen links, es schließt sich die Sympatolgruppe an, und dann folgt die chemisch noch weiter entfernte Ephedringruppe.

Zum zweiten sind die Substanzen innerhalb dieser Gruppen nach der Länge der an der Aminogruppe substituierten Nebenkette angeordnet, indem die primären Amine entsprechend ihrer stärker ausgeprägten exzitatorischen Wirkung stets am weitesten rechts stehen und die sekundären Amine (mit einer Methyl-, Äthyl- oder Sek. propyl-Gruppe) sich entsprechend der Länge der Nebenkette nach links anschließen. Offenbar ist die Länge der Nebenkette bei den höher alkylierten Verbindungen von größerer Bedeutung als die Struktur des Grundskeletts, so daß die Gruppen der Stammkörper sich überschneiden.

Die Übergänge zwischen inhibitorischen und exzitatorischen Wirkungen sind — gleich, ob man bei der Betrachtung von einem bestimmten Organ oder von einer Substanz ausgeht — dadurch charakterisiert, daß die Wirkung konzentrationsabhängig ist. Regelmäßig bewirkt in diesen Fällen die schwächere Konzentration Hemmung und die stärkere Erregung der glatten Muskulatur. Nicht selten kann auch ein Umschlagen der inhibitorischen in eine exzitatorische Wirkung bei Anwendung der gleichen Konzentration erzielt werden durch Vorbehandlung des Organs mit einer Substanz, die ihrerseits weiter rechts in der Tabelle angeordnet ist als die geprüfte Verbindung. So beobachteten wir an verschiedenen Organen, daß eine an sich hemmende Adrenalinkonzentration nach Vorbehandlung mit Suprifen-Psb oder Ephedrin-Psb erregte.

Der fließende Übergang zwischen sympathikomimetischer Hemmung und Förderung wird noch dadurch unterstrichen, daß bei vielen Organen die Tendenz, in der einen oder anderen Richtung zu reagieren, durch hormonale oder äußere Faktoren stark beeinflußt wird. Bekanntlich ändert sich die Reaktion des Katzen- und Hundeuterus gegenüber Adrenalin in der Schwangerschaft so stark, daß man den trächtigen und nichtträchtigen Uterus dieser Tiere in der Tabelle wie

Tabelle 3. *Schema der Wirkung einiger Stoffe aus der Adrenalin-Ephedrin-Reihe mit verschiedenen N-Substituenten auf die glatte Muskulatur isolierter Organe (zur pharmakologischen Einordnung von Adrenalin-Psb und Suprifen-Psb).*

	Ephedrin-Gruppe								
	Sympatol-Gruppe								
	Adrenalin-Gruppe								
	Psb-Adrenalin	Aludrin	Sek. butyl-Sympat.	N-aethyl-Adrenalin	Adrenalin	Sympatol	*Suprifen-Psb.*	nor-Sympatol	Ephedrin u. Oxyephedrine
Rattendarm	—				—		—		
Kaninchendarm	— 28	— 21,32		— 21,32	□ — 28,32	— 24,31	—	— 27	— / + 6,9
Rattenuterus	—		— 27		—	— 27	— / +	— 27	+ 9
Froschrectum	— 28				△ —		— / + 41		
Froschlunge	—	—			△ —	∅ / —	(−) / +		+
Meerschweinchen-Darm	— 28	—	— 27	— / (+) 26	— / + 26	33 — / + 27	—		
Meerschweinchen-Uterus	/ (+) 28	— 26,32	1:200000 Ø 27	+ 26,32	□△ — / +	1:200000 ∅ 27,33	— / + 41	+ 27	+ 9
Kaninchen-Uterus..	—	— 26	— 27	+ 21,26	+ 26,28	1:200000 Ø 27		+ 27	+ 9
Meerschweinchen-Samenblase	∅	/ +			+	+	Ø (adrenolytisch)		+

Zeichen:

— hemmende Wirkung

\+ fördernde Wirkung

— / + in niedrigen Konzentrationen hemmende, in hohen Konzentrationen fördernde Wirkung

— + je nach Funktionszustand Hemmung oder Förderung

(+) Förderung erst nach wiederholter Anwendung hoher Konzentrationen

△ Umkehr der hemmenden Wirkung in Förderung durch Vorbehandlung mit Suprifen-Psb

□ Umkehr der hemmenden Wirkung in Förderung durch Vorbehandlung mit Ephedrin

Die kleinen Zahlen verweisen auf das Literaturverzeichnis.

verschiedene Organe getrennt aufführen müßte. Ähnliches gilt für den Meerschweinchenuterus zu verschiedenen Zeiten des ovariellen Zyklus[16]. Die „jahreszeitlich bedingten" Schwankungen der Reaktionsbereitschaft der Froschlunge haben in unseren Versuchen zur Folge, daß das Organ auf die gleiche Konzentration von Suprifen-Psb gewöhnlich mit Kontraktion, zu bestimmten Zeiten aber mit Erschlaffung reagiert. Andere Faktoren, wie Fütterung und Temperatureinflüsse, mögen noch hinzukommen und die Ursache sein für manche scheinbar bestehenden Unstimmigkeiten.

Die Tabelle ließe sich durch Aufnahme weiterer Organe und Substanzen bedeutend vergrößern, ohne daß dabei — soweit wir die Literatur übersehen — grundsätzliche Widersprüche zu dem skizzierten System aufträten. Wir haben davon Abstand genommen, weil die dann zahlreicher auftretenden Lücken die Übersicht erschweren würden, und haben uns hauptsächlich auf solche Stoffe beschränkt, die für die Einordnung unserer aralkylierten Verbindungen in dies System als Leitpunkte dienen können. Aus dem Vergleich zwischen Adrenalin-Psb und Sek.-propyl-nor-Adrenalin (Aludrin) ist zu entnehmen, daß durch N-Substitution des Phenyl-sek.-butyl-Restes ähnlich wie durch N-Substitution größerer Alkylreste das Verhältnis von exzitatorischer zu inhibitorischer Wirkung zugunsten der inhibitorischen verschoben wird.

Es erscheint uns wichtig, darauf hinzuweisen, daß die Wirkungen der Sympathikomimetika auf die Gefäßmuskulatur sich in dieses Schema einfügen. Das unter normalem Tonus stehende Gefäßsystem antwortet im Durchschnitt aller Organe auf kleine Dosen Adrenalin mit Dilatation und auf große mit Konstriktion. N-äthyl-nor-Adrenalin steigert den Blutdruck erst in 20fach höheren Dosen als Adrenalin[21], und die noch höher alkylierten und die aralkylierten Derivate wirken in jeder Konzentration nur gefäßerweiternd. Sympatol, Suprifen und Ephedrin sowie die zugehörigen primären Amine wirken pressorisch, während die entsprechenden N-substituierten Verbindungen wiederum die Gefäße erweitern. Demnach wäre die Gefäßmuskulatur in der Organreihe der Tabelle in gleicher Höhe wie der Meerschweinchendarm oder dicht darunter einzuordnen.

Allerdings müßte Suprifen-Psb nach seiner Gefäßwirkung ebenso wie nach seiner Wirkung auf den Meerschweinchendarm weiter nach links angeordnet werden, da es an beiden Objekten hemmt. Durch kleine Ergotamindosen kann jedoch die blutdrucksenkende Wirkung von Suprifen-Psb in eine Blutdrucksteigerung umgekehrt werden[44] (siehe auch [25]).

Zur exakten Einordnung wird man die Gefäßgebiete verschiedener Organe gesondert betrachten müssen. So haben z. B. die Hautgefäße stärkere Tendenz zu exzitatorischer Reaktion als die Muskelgefäße; sie werden durch Adrenalindosen verengt, die am Muskel noch gefäßerweiternd wirken, und reagieren auf die inhibitorischen Sympathikomimetika Adrenalin-Psb und Suprifen-Psb mit schwächerer Dilatation als die Muskelgefäße. — Außenfaktoren haben gleichfalls einen Einfluß: beim unterkühlten Tier werden die Extremitätengefäße durch die gleichen Adrenalindosen erweitert, die sonst konstringieren.

Zusammenfassung.

1. Es zeigt sich, daß die *Toxizität* alkylierter Sympathikomimetika durch die Substitution des Phenylrestes weniger gesteigert wird als die allgemeine Wirkungsstärke, und daß die wirksamsten Verbindungen dieser Reihe zugleich die größte sogenannte therapeutische Breite haben.

2. Frequenz und Hubhöhe des isolierten *Froschherzens* werden durch die aralkylierten Adrenalin- und Corbasil-Derivate gefördert, durch Suprifen-Psb und die Derivate des Ephedrins und Benzedrins gehemmt. In niedrigen Konzentrationen kann Suprifen-Psb am frischen und spontan insuffizienten, aber nicht am künstlich geschädigten Herzen die Hubhöhe fördern. Bei Durchströmung des Herzens in situ steigt das Schlagvolumen häufig bei verminderter Hubhöhe an, das Herzminutenvolumen bleibt gleich oder sinkt nur wenig ab.

3. *Kaltblüterorgane* mit glatter Muskulatur (Froschlunge, -magen und -rektum) werden durch Adrenalin-Psb und Corbasil-Psb gehemmt, durch die übrigen Derivate meist erregt.

4. *Warmblüterorgane:* Adrenalin-Psb wirkt an allen untersuchten Organen hemmend, Suprifen-Psb am Rattenuterus in höheren Konzentrationen erregend, sonst ebenso wie am Ratten- und Meerschweinchendarm hemmend. An der Samenblase des Meerschweinchens läßt sich eine adrenolytische Wirkung von Suprifen-Psb nachweisen.

5. Der *Blutzucker*spiegel wird durch die aralkylierten Sympathikomimetika in kreislaufwirksamen Dosen zum Teil erheblich gesteigert.

6. Sekretion und Motilität des menschlichen *Magens* werden durch Suprifen-Psb und Adrenalin-Psb gefördert.

7. Es wird ein Schema für die inhibitorischen und exzitatorischen Wirkungen der Sympathikomimetika auf Organe mit glatter Muskulatur einschließlich der Gefäße skizziert, in dem die Substanzen nach Grundskelett und N-Nebenkette geordnet werden.

Literatur.

[1] Brecht, K.: Pflügers Arch. **249**, 94 (1947). — [2] Brecht, K., M. Corsten u. H. Lullies: Naturwiss. **28**, 351 (1940). — [3] Brecht, K., u. H. Kaumanns: Z. Biol. **103**, 69 (1949). — [4] Bülbring, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — [5] de Burgh-Daly, I., C. O. Hebb and B. Petrowskaia: Quart. J. exper. Physiol. **31**, 129 (1941). — [6] Chen, K. K., and C. F. Schmidt: J. of Pharmacol. **24**, 339 (1924/25). — [7] Chen, K. K., C. K. Wu and E. Henriksen: J. of Pharmacol. **36**, 363 (1929). — [8] Coerdt, L.: erscheint demnächst. — [9] Curtis, F. R.: J. of Pharmacol. **35**, 333 (1929). — [10] Dijkstra, C., u. A. K. M. Noyons: Arch. internat. Physiol. **49**, 257 (1939). — [11] Dodds u. Mitarb.: Nature (Lond.) **131**, 56 (1933); **137**, 995 (1936); **139**, 627, 1068 (1937). — [12] Gollwitzer-Meier, Kl.: im Erscheinen begriffen. — [13] Grab, W.: Münch. med. Wschr. **1939**, 436. — [14] Hauschild, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 647 (1940). — [15] Hebb, C. O., and Nimmo Smith, R. H.: J. of Physiol. **105**, 1 (1946). — [16] Holtz, P., u. K.

WÖLPERT: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **185**, 20 (1937). — [17] HOPPE, J. O., D. K. SEPPELIN and A. M. LANDS: J. of Pharmacol. **95**, 502 (1949). — [18] JACHNIK, D.: Inaugural-Dissertation Köln 1950. — [19] KADATZ, R.: Pflügers Arch. **252**, 1 (1949). — [20] KISCH, B.: Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. V Teil 8 S. 1191. — [21] KONZETT, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 41 (1940). — [22] KÜLZ, F., u. K. W. ROSENMUND: Klin. Wschr. **1938**/I, 344. — [23] KÜLZ, F., u. M. SCHNEIDER: Klin. Wschr. **1950**, 535. — [24] KUSCHINSKY, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 290 (1930). — [25] LANDS, A. M., F. P. LUDUENA, J. I. GRANT, E. ANANENKO and M. L. TAINTER: J. of Pharmacol. **100**, 284 (1950). — [26] LANDS, A. M., V. J. NASH, B. L. DERTINGER, H. R. GRANGER and H. M. MCCARTHY: J. of Pharmacol. **92**, 369 (1948). — [27] LANDS, A. M., E. E. RICKARDS, V. I. NASH and K. Z. HOOPER: J. of Pharmacol. **89**, 297 (1947). — [28] LANGE, G.: Inaugural-Dissertation Frankfurt 1949. — [29] LOEW, E. R., and A. MICETICH: J. of Pharmacol. **93**, 434 (1948). — [30] LUX, E.: Klin. Wschr. **1938**/I, 346. — [31] MARSH, D. F., and D. A. HERRING: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 489 (1949). — [32] MARSH, D. F., M. H. PELLETIER and C. A. ROSS: J. of Pharmacol. **92**, 108 (1948). — [33] MEIER, R., u. J. H. BEIN: Bull. Schweiz. Akad. d. Wiss. **6**, 209 (1950). — [34] OSTWALD, E.: Med. Klin. **1950**, 733. — [35] REIN, H., u. M. SCHNEIDER: Z. Biol. **91**, 13 (1930). — [36] RÖSSEL, W.: unveröffentlicht. — [37] SAUERWEIN, E.: Inaugural-Dissertation Köln 1950. — [38] SCHAUMANN, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 127 (1931). — [39] SCHAUMANN, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 17 (1938). — [40] SCHNELLBÄCHER: Inaugural-Dissertation Köln 1950. — [41] TONDERA: Inaugural-Dissertation Frankfurt 1949. — [42] UNNA, KL.: erscheint in Arch. exper. Path. u. Pharmakol. — [43] VOGT, W.: unveröffentlicht. — [44] WIEMERS, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 283 (1951). — [45] WIEMERS, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 314 (1951).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 355—360 (1951).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. M. Schneider).

Über lokalanästhetische Wirkungen aralkylierter Sympathikomimetika der Adrenalin-Benzedrinreihe.

(IV. Mitteilung über Aralkyle der Adrenalin-Benzedrinreihe.)

Von
N. Ludwigs und K. Wiemers.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Februar 1951.)

Durch die Untersuchungen von Schaumann und Hauschild ist bekannt, daß Sympathikomimetika, die am N-Atom mit einem Benzylrest substituiert sind, lokalanästhetische Wirkungen entfalten können. Auch das von Külz und Rosenmund aus dem Papaverin entwickelte Spasmolytikum „Sestron", das seiner Konstitution nach gleichfalls als aliphatisch-aromatisch substituiertes Sympathikomimetikum aufgefaßt werden kann, wirkt lokalanästhetisch. Die von Külz entwickelten N-aralkylierten Substanzen aus der Adrenalin-Benzedrin-Reihe bieten die Möglichkeit, die sonst noch kaum systematisch untersuchten Beziehungen zwischen chemischer Struktur und lokalanästhetischer Wirkung derartiger Substanzen näher zu überprüfen.

Die Strukturformeln der in die vorliegende Untersuchung einbezogenen Substanzen sind aus Tab. 1 zu ersehen. In den abgekürzten Bezeichnungen sind die Grundkörper mit den üblichen Firmennamen benannt. Mit Psb wird der *P*henyl-*s*ek.-*b*utylrest abgekürzt, der bei primären Aminen ein am N-Atom stehendes H-Atom und bei sekundären Aminen eine CH_3-Gruppe ersetzt.

Methodik. Um einen ersten Überblick über lokalanästhetische Wirkungen innerhalb unserer Substanzreihe zu erhalten, wurde am Menschen die Anästhesiedauer bei intrakutaner Injektion 0,5%iger Lösungen in physiologischer Kochsalzlösung geprüft; von einigen Stoffen kamen auch 0,1%ige Lösungen zur Anwendung. Die Gesamtmenge betrug in beiden Fällen 0,8 cm^3 Flüssigkeit. Gewertet wurde die völlige Aufhebung der Schmerzempfindung auf Nadelstiche. Die Methode liefert trotz ihres subjektiven Faktors auch bei kleinen Versuchsreihen gut übereinstimmende Werte, besonders an ein und derselben Versuchsperson. Die erhaltenen Zahlen sind kein eigentlicher Maßstab für die Wirkungsstärke, da sie u. a. durch die Gefäßaktivität der Substanzen beeinflußt sind. Für die Beurteilung der praktischen Brauchbarkeit bedeutet dies keinen Nachteil.

Die *Ergebnisse* sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die längste Wirkungsdauer hat Benzedrin-Psb, eine Verbindung mit geringem Kreislaufeffekt. Diese Substanz wurde näher untersucht und mit Novocain und Kokain verglichen.

Tabelle 1. *Vergleich der Anästhesiedauer bei intrakutaner Injektion beim Menschen (Mittelwerte aus mindestens 4 Versuchen; den mit * bezeichneten Zahlen liegen weniger als 4 Versuche zugrunde).*

Bezeichnung	R_1	R_2	CH—CH—NH—R_5— R_3	R_4		R_6	Relative Wirkungsstärke auf d. Blutdruck	Anästhesie-Dauer in min bei der Konz. 1:1000	1:500
Methylepinin-Psb	OH	OH	H	CH_3	—CH—CH_2—CH_2— | CH_3	—C_6H_5	1,5	32	41*
Sympatol-Psb	OH	H	OH	H	,,	,,	1,5	—	38
Suprifen-Psb	OH	H	OH	CH_3	,,	,,	**1,0**	30*	33
Ephedrin-Psb	H	H	OH	CH_3	,,	,,	0,1	28*	33*
Benzedrin-Psb	H	H	H	CH_3	,,	,,	0,02	**38**	**42**
Keto-Suprifen-Psb	OH	H	=O	CH_3	,,	,,	~ 0,1	—	36
Amino-Suprifen-Psb	NH_2	H	OH	CH_3	,,	,,	0,2	19*	25*
Benzyl-Benzedrin	H	H	H	CH_3	—CH_2—	,,	—	14*	20*
Benzyl-nor-Suprifen	OH	H	OH	CH_3	—CH_2—	,,	0,02	—	22
(Methyl-benzyl)-nor-Suprifen . .	,,	,,	,,	,,	—CH— | CH_3	,,	0,01	23*	24*
Phenyl-äthyl-nor-Suprifen. . . .	,,	,,	,,	,,	—CH_2—CH_2—	,,	0,3	—	34
Phenyl-n-propyl-nor-Suprifen . .	,,	,,	,,	,,	—CH_2—CH_2—CH_2—	,,	0,6	—	34
Phenyl-sek. propyl-nor-Suprifen .	,,	,,	,,	,,	—CH—CH_2— | CH_3	,,	0,5	—	33
Phenyl-n-butyl-nor-Suprifen. . .	,,	,,	,,	,,	—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—	,,	0,2	—	34*
Phenyl-sek. butyl-nor-Suprifen. .	,,	,,	,,	,,	—CH—CH_2—CH_2— | CH_3	,,	1,0	30*	33
Phenyl-sek. pentyl-nor-Suprifen .	,,	,,	,,	,,	—CH—CH_2—CH_2—CH_2— | CH_3	,,	0,05	34	—
Sek. butyl-nor-Suprifen	OH	H	OH	CH_3	—CH—CH_2—CH_2— | CH_3	H	0,02	—	11?
„Butylsympatol“	,,	,,	,,	H	—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—	H	—	∅	∅

1. Oberflächenanästhesie.

Geprüft wurde die Sensibilität der Kaninchenkornea auf summierte Reize. — Nach Kürzung der Lidhaare wurden 2 Tropfen der zu prüfenden Lösung im Abstand von 30 sec in den Konjunktivalsack geträufelt. Völlige Anästhesie wurde angenommen, wenn 15 kurz aufeinanderfolgende Druckreize mit einer mittelstarken Borste auf das Zentrum der Kornea keinen Lidschluß mehr auslösten; beim unbehandelten Auge erfolgte der Reflex stets nach 1—2 Reizen. Die Lösungen wurden nicht ausgewaschen. Die Wirkung galt als abgeklungen, wenn weniger als 8 aufeinanderfolgende Reize Lidschluß hervorriefen.

In Abb. 1 ist die so erhaltene Anästhesiedauer in Abhängigkeit von der angewendeten Konzentration aufgetragen. Benzedrin-Psb bewirkt

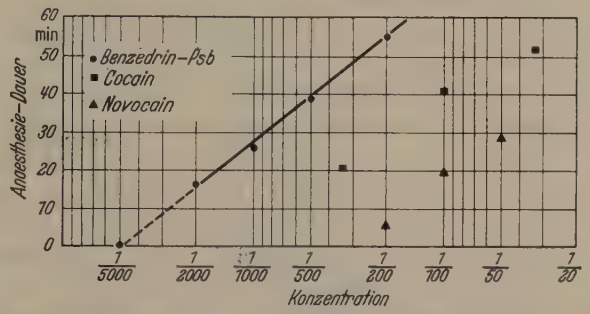


Abb. 1. Dauer der Oberflächenanästhesie (Kaninchenkornea). Mittelwerte aus durchschnittlich 4 Versuchen.

ab 1 : 1000 stets sichere Anästhesie für mindestens 20 min, Kokainlösungen unter 1 : 500 wirken nicht mehr zuverlässig. Novocain ist beiden Stoffen in der Wirkungsdauer unterlegen.

Unter der Einwirkung von Benzedrin-Psb ist infolge der vasodilatierenden Wirkung eine stärkere Gefäßzeichnung, besonders an der Nickhaut, zu beobachten; entzündliche Reizungen oder sonstige Schädigungen treten nicht auf.

Bei orientierenden Versuchen an der Mundschleimhaut bewirkte Benzedrin-Psb noch in Konzentrationen von 1 : 50000 ein leichtes, bei 1 : 25000 deutliches Taubheitsgefühl und Verlust der Geschmacksempfindung.

2. Infiltrationsanästhesie.

Bei Prüfung mit der Quaddelmethode (Technik wie oben) fanden wir für Benzedrin-Psb eine wirksame Grenzkonzentration von 1 : 5000 und für reines Novocain von 1 : 200. Kontrollinjektionen mit physiologischer Kochsalzlösung waren wirkungslos. Den Anstieg der Anästhesiedauer mit der Konzentration zeigt Abb. 2. Die Wirkung hält bei Benzedrin-Psb 1 : 200 etwa 50 min an; sie tritt momentan ein, so daß ein

durch den Druck der Injektionsflüssigkeit ausgelöstes Brennen (das auch bei Kontrollen mit physiol. NaCl zu beobachten ist) noch unter der Injektion aufhört. Die Quaddel wird nach wenigen Minuten hyperämisch. Allgemeinwirkungen sind bis zu einer injizierten Gesamtmenge von 30 mg Substanz nicht zu beobachten, höhere Dosen wurden nicht geprüft.

Während die Novocain-Anästhesie — auch bei Adrenalinzusatz — über den Bereich der eigentlichen Quaddel hinaus auf das umgebende

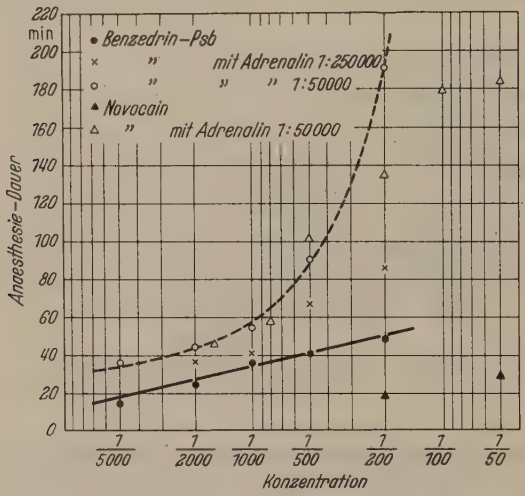


Abb. 2. Dauer der Infiltrationsanästhesie (Hautquaddel am Menschen). Mittelwerte aus durchschnittlich 4 Versuchen.

Gewebe übergreift, bleibt die Benzedrin-Psb-Wirkung mehr auf den Ort der Injektion beschränkt. Wenn bei *sub*kutaner Injektion nicht flächig infiltriert, sondern nur ein Depot gesetzt wird, bleibt die Anästhesie der über der Injektionsstelle gelegenen Haut zuweilen unvollständig, obgleich in der Tiefe deutliches Taubheitsgefühl besteht.

3. Leitungsanästhesie (1 Versuch am Menschen).

Der sulcus N. ulnaris am linken Ellenbogen wurde mit 2 cm^3 0,5%iger Benzedrin-Psb-Lösung infiltriert. Mit Beendigung der Injektion traten Parästhesien auf, nach 10 min völlige Anästhesie und Analgesie sowie eine motorische Schwäche bei Abduktion des 5. Fingers. Eine Stunde später wurde beim Kneifen wieder ein Tiefenschmerz auslösbar, nach weiteren 20 min wurden Nadelstiche wieder als Schmerz empfunden. Ein gewisses Taubheitsgefühl blieb einige weitere Stunden lang zurück.

Besprechung der Ergebnisse.

Die von uns untersuchten Verbindungen weichen von der chemischen Struktur der bekannten Lokalanästhetika beträchtlich ab; während fast alle gebräuchlichen Kokainersatzmittel als Grundelement die Benzoesäuregruppe enthalten, besteht das wirksame Prinzip unserer Substanzen in der endständigen Anordnung zweier Benzolringe an zwei die Aminogruppe einschließenden aliphatischen Ketten.

Die entscheidende Bedeutung des zweiten Benzolringes geht aus dem Vergleich von Suprifen-Psb und Sympatol-Psb mit sek. Butyl-nor-Suprifen und Butyl-Sympatol hervor. Demgegenüber hat eine unterschiedliche Substitution des ersten Benzolringes und der Seitenkette in unseren Versuchen keinen erheblichen Einfluß auf die Anästhesiedauer. Die geringen Differenzen sind durch die schwächere oder stärkere gefäßerweiternde Wirkung dieser Stoffe hinreichend zu erklären. Eine p-ständige Aminogruppe am Benzolkern des Grundskeletts verstärkt die Wirkung nicht.

Die allgemeine Erfahrung, daß eine Vergrößerung des Moleküls die lokalanästhetische Wirkung verstärkt, läßt sich auch bei diesen Substanzen bestätigen; mit der Verlängerung der N-Nebenkette nimmt die Anästhesiedauer zu. Dabei hat jedoch der Übergang von der Benzyl- zur Phenyläthyl-Gruppe viel größere Bedeutung als die weitere Verlängerung bis zur Phenyl-sek. Pentyl-Gruppe.

Die wirksamste der von uns geprüften Verbindungen (Benzedrin-Psb) ist, wenn die Schwellenkonzentration dem Vergleich zugrunde gelegt wird, sowohl dem Kokain in der Oberflächenanästhesie wie dem Novocain bei der Infiltrationsanästhesie überlegen, aber auch mehrfach toxischer als Novocain (die LD_{50} bei s.c. Injektion bei der weißen Maus beträgt für Novocain 600—700 mg/kg (zitiert nach Laubender), für Benzedrin-Psb $<$ 150 mg/kg). Die Wirkungs*dauer* reiner Benzedrin-Psb-Lösungen liegt im Quaddelversuch zwischen derjenigen einer reinen Novocainlösung und der üblichen Novocain-Adrenalin-Lösung. Die Kombination Benzedrin-Psb mit Adrenalin hat etwa gleiche Wirkungsdauer wie die Novocain-Adrenalin-Lösung, läßt aber auch die bekannten Nachteile des Adrenalinzusatzes verstärkt hervortreten, da die Resorption des Adrenalins durch die vasodilatierende Wirkung von Benzedrin-Psb verbessert wird.

Zusammenfassung.

Die von Külz entwickelten aralkylierten gefäßerweiternden Sympathikomimetika besitzen im Quaddelversuch eine kräftige lokalanästhetische Wirkung. Aus dem Vergleich mit entsprechenden rein aliphatisch substituierten Verbindungen geht hervor, daß diese Wirkung

auf den zweiten Benzolring zurückzuführen ist. Mit Vergrößerung des Abstandes zwischen der Aminogruppe und dem Phenylrest auf zwei C-Atome nimmt die Wirkung sprunghaft, bei weiterer Verlängerung nicht mehr merklich zu. Die Konstitution des Grundkörpers ist demgegenüber von geringerer Bedeutung.

Von den geprüften Substanzen hat das Phenyl-sek.butyl-Benzedrin die stärkste Wirkung. Auf Grund ihrer relativ geringen Diffusion hat die Substanz mehr den Charakter eines Oberflächenanästhetikum als eines Infiltrationsanästhetikum. An der Kaninchencornea ist die Wirkungsdauer 5mal länger als bei Kokain.

Literatur.

Hauschild, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 647 (1940). — Külz, F., u. K. W. Rosenmund: Klin. Wschr. **1938**/I, 344. — Külz, F., u. M. Schneider: Klin. Wschr. **1950**, 535. — Laubender, W.: Handbuch d. exper. Pharmakol. Ergänzungswerk Bd. 8, S. 1ff. Berlin: Springer 1939. — Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 30 (1938).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 361—364 (1951).

Aus dem Laboratorium „Hormona-Colombia" S. A., Bogotá-Kolumbien
(Wissenschaftlicher Direktor: Prof. Dr. D. v. KLOBUSITZKY).

Gerinnungsfördernde Wirkung hämostatischer Bothropsgift-Präparate.

Von
D. v. KLOBUSITZKY.

(Eingegangen am 25. Januar 1951.)

Seit den Arbeiten von KLOBUSITZKY und KÖNIG[1, 2], in denen gezeigt wurde, daß es möglich ist, einerseits den gerinnungsfördernden Bestandteil von den übrigen pharmakologisch wirksamen Prinzipien der natürlichen Giftsekrete der Schlangengattung *Bothrops* zu trennen, andererseits, daß jener Bestandteil die Eigenschaft besitzt, die Gerinnungszeit des normalen oder selbst des Ca-freien Blutes sowohl „in vitro" als auch „in vivo" herabzusetzen, haben verschiedene amerikanische und europäische Laboratorien aus Schlangengiften bereitete Präparate mit hämostatischen Eigenschaften für therapeutische Zwecke auf den Markt gebracht.

Noch in einer Zeit, in der man nicht wußte, ob die gerinnungsfördernde Komponente mit dem Neurotoxin identisch ist oder nicht, und in der unsere Kenntnisse über den Mechanismus der von Schlangengiften bedingten Gerinnungsförderung noch ziemlich rudimentär waren, haben mehrere Kliniker, wie PECK und seine Mitarbeiter[3–6], KORESSIOS[7], MCFARLANE und BARNETT[8], ROSENFELD und LENKE[9], BAKER und GIBSON[10], HANCE[11] und SERGENT[12], Blutungen verschiedenen Ursprungs mit empirisch verdünnten Giftlösungen zu behandeln versucht, wobei sie als Ausgangsmaterial die nativen Giftsekrete von *Agkistrodon piscivorus* (Mokassinschlange), *Vipera Russellii* (Kettenviper), *Notechis scutatus* (Tigernatter), *Cerastes cornutus* (Hornviper), *Naja naja* (Brillenschlange) und *Bothrops atrox* (Lanzenschlange) verwendeten.

Der therapeutische Wert solcher Präparate läßt sich auf Grund der bisher erschienenen klinischen Veröffentlichungen folgenderweise kurz zusammenfassen: Die gerinnungsfördernden Bestandteile der Schlangengiftsekrete besitzen die Fähigkeit, infolge einer Abnahme des Gerinnungsvermögens (z. B. Hämophilie, WERLHOFFsche Krankheit, Epistaxis familiaris, usw.) entstandene parenchymatöse oder kapillare Blutungen zum Stillstand zu bringen, oder — bei Individuen mit normaler Blutgerinnung — Blutungen, welche als Folgen von Verletzungen oder nicht mit Entzündungsvorgängen begleitetem Gewebezerfall auftreten, zu stillen. Sie haben jedoch keinen Erfolg bei solchen Blutungen von Frauen, welche durch innersekretorische Störungen entstanden sind (GITHENS[13], PAGE und Mitarbeiter[14], ALEXANDER[15], QUICK[16], FREIRE[17], MACHT[18], VAZ[19], KLEIMANN und Mitarbeiter[20], BERTRAND-QUIVY[21], PEREIRA[22], BARBOSA[23], BUCHERT[24], AZEVEDO[25], MALMIERCA[26]).

In den meisten Fällen werden noch heute auf empirischer Grundlage verdünnte Lösungen verwendet, was zur Folge hat, daß die Wirksamkeit der Lösungen Schwankungen unterworfen, der exakte Vergleich von Präparaten verschiedener Laboratorien unmöglich ist und daß die in den Produkten vorhandenen Proteine häufig allergische Reaktionen hervorrufen (PECK und Mitarbeiter[27]). Mit der

Zeit zeigt sich außerdem eine deutliche Abnahme in der gerinnungsfördernden Wirkung, ein Umstand, welcher dem Kliniker unangenehme Überraschungen bereitet.

Infolge der zunehmenden Verwendung dieser Medikamente nahm der I. Panamerikanische Pharmazeutenkongreß, welche im Dezember 1948 in La Habana (Cuba) tagte, in seine offiziellen Themen die Festlegung von Normen für die aus tierischen Giften bereiteten pharmazeutischen Spezialitäten auf. Die entsprechenden Vorschläge des Referenten (v. Klobusitzky[28]) wurden angenommen.

Die Aufgabe der hier veröffentlichten Versuche war, festzustellen, ob die gemäß den Vorschriften des erwähnten Kongresses bereiteten Präparate ihre gerinnungsfördernde Wirkung tatsächlich besser entfalten als die einfachen Sekretverdünnungen oder als diejenigen, welche nach dem individuellen Ermessen des Herstellungslaboratoriums standardisiert sind. Weiter sollte versucht werden, diejenige Zeitspanne zu bestimmen, innerhalb welcher das Präparat zu wirken anfängt, und wie lange seine Wirkung „in vivo" anhält.

Wir haben in unseren Versuchen 3 verschiedene Handelspräparate verwendet, von denen 2 (Nr. I und II) nach den Angaben ihrer Hersteller entsprechend den Vorschriften des erwähnten Kongresses bereitet waren, dagegen das 3. (Nr. III) nur die Angabe der therapeutischen Dosis und des Gehaltes von 0,02—0,03 mg Trockengift je Kubikzentimeter trug. Nr. I wurde in Kolumbien hergestellt, Nr. II und III waren von auswärts importiert. Für Nr. II war eine Anwendungsgültigkeit von 6 Monaten, für Nr. I eine solche von mehr als einem halben Jahr, für Nr. III war keine diesbezügliche Angabe vermerkt.

Um die gerinnungsfördernde Wirksamkeit der Präparate festzustellen, folgten wir der dem erwähnten Kongreß vorgeschlagenen Technik, welche darin besteht, daß man zu 5 cm³ frischem, 0,3% Na-oxalat enthaltendem Pferdeblut von 22° C diejenige Menge des zu prüfenden Präparates hinzufügt, welche 1 therapeutischen Erwachsenendosis entspricht (die für alle 3 Präparate in 1 cm³ enthalten sein sollte), und die Zeit bis zur vollständigen Gerinnung bestimmt.

In Fällen von pathologisch verminderter Gerinnungsfähigkeit hält die Gerinnungsbeschleunigung bedeutend länger an (siehe die Fälle von Hämophilie und Purpura haemorrhagica bei v. Klobusitzky, Klin. Wschr. **16**, 669 [1937]).

In unserem Fall waren die Gerinnungszeiten für

Präparat	I	10 min, 10 sec
	II	22 min,
	III	192 min.

An Kaninchen wurde die zur Entfaltung der Wirkung nötige Zeit sowie ihre Dauer festgestellt. In der ersten Gruppe der Versuche wurde nur das Präparat I, in der zweiten Gruppe die Präparate I und III verwendet. Je Kilogramm Körpergewicht wurde $^1/_{70}$ cm³ des betreffenden Präparates unter Ergänzung des Volumens auf 1 cm³ mit physiologischer NaCl-Lösung injiziert. Die Gerinnungszeit wurde jeweils an 1 cm³ Blut in Wassermannschen Röhrchen ermittelt.

Für Präparat I wurde als Gerinnungszeit gefunden:

a) *bei intravenöser Verabreichung:*

vor der Injektion: 4 min 30 sec
3 min nach der Injektion: 4 min 30 sec
7 „ „ „ „ 1 min 30 sec
11 „ „ „ „ 1 „ 30 „

b) *bei intramuskulärer Verabreichung:*

vor der Injektion: 4 min 40 sec
9 min 30 sec nach der Injektion: 4 min 30 sec
16 „ nach der Injektion: 1 min 20 sec

c) *bei subkutaner Injektion:*

vor der Injektion: 3 min 50 sec
10 min nach der Injektion: 4 min 10 sec
15 „ „ „ „ 3 „
21 „ 30 sec nach der Injektion: 1 min 15 sec.

Bezüglich der Dauer der gerinnungsfördernden Wirkung erhielten wir folgende Ergebnisse; die Gerinnungszeit betrug:

Für Präparat I:

Vor der i.v. Verabreichung: 4 min 50 sec.
24 Std nach der Injektion: 1 min 20 sec
72 „ „ „ „ 1 „ 20 „
96 „ „ „ „ 1 „ 30 „
116 „ „ „ „ 4 „ 40 „

Für Präparat III:

Vor der i.v. Injektion: 4 min 10 sec.
30 min nach der Injektion: 4 min 45 sec
24 Std „ „ „ 3 „ 10 „
48 „ „ „ „ 3 „
72 „ „ „ „ 4 „

Die obigen Resultate weisen daraufhin, daß:

a) die aus Schlangengiften bereiteten gerinnungsfördernden Präparate, um therapeutisch wirksam zu sein, pro therapeutische Erwachsenendosis soviel gerinnungsfördernde Substanz enthalten müssen, welche ausreicht um 5 cm^3 Ca-freies Pferdeblut in etwa 10 min zur vollständigen Gerinnung zu bringen, d. h. sie müssen pro cm^3 eine gerinnungsfördernde Einheit enthalten;

b) die maximale gerinnungsfördernde Wirkung im Falle i.v. Verabreichung nach 3 und vor 7 min, bei i.m. Verabreichung nach 10 und vor 16 min bei subkutaner Gabe nach 15 und vor 21 min nach der Injektion erreicht wird;

c) die maximale Herabsetzung der Gerinnungszeit 4 Tage lang anhält.

Literatur.

[1] v. Klobusitzky, D., und P. König: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **181**, 387 (1936). — [2] v. Klobusitzky, D., und P. König: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **182**, 577 (1936). — [3] Peck, S. M.: Proc. exper. Biol. a. Med. **29**, 579 (1932). — [4] Peck, S. M., and M. Goldberger: Amer. J. Obstetr. **25**, 887 (1933). — [5] Peck, S. M., and N. Rosenthal: J. Amer. med. Assoc. **104**, 106 (1935). — [6] Peck, S. M., M. L. Crimmins and L. A. Erf: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **32**. 1525 (1935). — [7] Koressios, N. T.: Le venin de cobra, son action physiologique, ses indications thérapeutiques. Paris: Maloine 1935. — [8] McFarlane, R. M., and N. Barnett: Lancet **227**, 985 (1934). — [9] Rosenfeld, S., and S. E. Lenke: Amer. J. med. Sci. **190**, 779 (1935). — [10] Baker, D. A., and P. C. Gibson: Lancet **230**, 428 (1936). — [11] Hance, J. B.: Indian med. Gaz. Nr. 2, Jahrg. 1937. — [12] Sergent, E.: Arch. Inst. Pasteur Algérie **15**, 20 (1937). — [13] Githens, T. S.: Clin. Med. a. Surg. **46** (4), 167 (1939). — [14] Page, R. C., and E. C. Thomas: Med. Clin. N. Amer. **24**, 777 (1940). — [15] Alexander, A. H.: Scient. Amer. **165**, 66 (1941). — [16] Quick, S. J.: The hemorrhagic diseases, 1st ed. S. 149. Sprigfield: Ch. C. Thomas 1942. — [17] Freire, R.: Rev. Brasil. Cir. **12**, 197 (1943). — [18] Macht, D. I.: Ann. int. Med. **18**, 772 (1943). — [19] Vaz, E., e A. Pereira: An. Inst. Pinheiros (S. Paulo) **7**, 45 (1944). — [20] Kleinman, A., R. C. Page and P. W. Preisler: J. Lab. a. clin. Med. **30**, 448 (1945). — [21] Bertrand, I., and D. Quivy: C. r. Soc. Biol. Paris **138**, 472 (1944). — [22] Pereira, A.: An. Paulistas Med. Cir. **48**, 219 (1944). — [23] Barbosa, A.: Rev. Bras. Biol. **4**, 367 (1944). — [24] Buchert: Rev. Bras. Med. **2**, 189 (1945). — [25] Azevedo, A.: Rev. Paulista Med. **29**, 105 (1946). — [26] Malmierca, R. M.: Dia Méd. **19**, 2198 (1947). — [27] Peck, S. M., N. Rosenthal and L. Erf: Arch. Derm. and Syph. **35**, 831 (1935). — [28] v. Klobusitzky, D.: Bol. Acad. Nac. Farm. **10** (2), 627 (1948). Rio de Janeiro.

Prof. Dr. med. D. de Klobusitzky, São Paulo, Brasil, Cx. p., 1.036.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 365—372 (1951).

Aus der I. Med. Univ.-Klinik, Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Lauda).

Zum Problem des Leukozytenstoffwechsels.

2. Mitteilung.

Einfluß von Röntgenstrahlen, Urethan und Colchizin auf den Stoffwechsel myeloisch-leukämischer Zellen.

Von

E. Keibl und K. H. Spitzy.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. August 1950.)

Im Zusammenhang mit den Ergebnissen unserer 1. Mitteilung wurde untersucht, ob verschiedene Leukämietherapien Stoffwechselveränderungen an isolierten Zellen bedingen und ob die erhobenen Werte von den auf Grund der Zellverteilung erwarteten abweichen. Wenn dies der Fall wäre, könnten Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der jeweiligen Therapie gezogen werden.

Grundumsatzerhöhung bei Leukämien[1] und Veränderungen desselben im Verlaufe der Behandlung wurden beobachtet[2, 3]. Veränderungen des Zellstoffwechsels isolierter Zellen durch ionisierende Strahlung, Urethan und Colchizin wurde verschiedentlich festgestellt[4–45]. Hierbei zeigte sich unter dem Einfluß von Röntgen und Urethan teils Atmungssteigerung, teils Atmungshemmung, je nach Dosis und Versuchsanordnung. Bei Colchizin scheint eine Stoffwechselwirkung erst bei sehr hohen Dosen (150 mg%) aufzutreten.

Bei unseren Untersuchungen wurden 3 Behandlungsarten angewandt, die nach den bisher vorliegenden Ergebnissen vorwiegend eine antimitotische Wirkung aufweisen. Bei den Leukämien zeigt sich diese Wirkung als eine *Schädigung der Blutbildungsstätten*, da diese als Organe mit zahlreichen Mitosen besonders empfindlich sind. Im weiteren könnte sich der Stoffwechsel durch *Bildung abnormaler Zellen* oder durch Beeinflussung der im Blut kreisenden Zellen ändern, wobei es sich um eine direkte Wirkung auf dieselben oder um eine indirekte durch *Veränderung des Blutmilieus* handeln könnte. Vor allem ist bei jeder der 3 angegebenen Therapiearten eine Änderung der Zellverteilung im Sinne einer Verschiebung zugunsten reiferer Zellen zu erwarten, sofern dieselbe Erfolg hat.

Nach unserer 1. Mitteilung weisen reifere Zellen einen anderen und zwar höheren Stoffwechsel auf und es muß in jedem Fall, wo diese Verschiebung eintritt, sowohl ein höherer Sauerstoffverbrauch, aber gleichzeitig ein steilerer Atmungsabfall in vitro zu beobachten sein.

Material und Methode: Zur Herstellung der Zellsuspensionen wurde das Blut von 12 Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie verwendet.

Es wurden behandelt:

4 Patienten mit Röntgenbestrahlung der Milzgegend (150 r bei einem Cu-Filter von 0,5 und einem Fokus von 30 cm);

5 Patienten mit Urethan täglich 4 g per os oder per clysmam, bis 200 g Gesamtdosis;

3 Patienten mit Colchizin, 2 mg s. c. je 1—2 Std vor Röntgenbestrahlung der Milzgegend.

In 4tägigen Abständen wurde das Blut aus der Kubitalvene entnommen und nach der in unserer 1. Mitteilung angegebenen Methode die Leukozyten gewonnen und deren Stoffwechsel nach Warburg im Bikarbonatpuffer mit Glukose untersucht.

Festgestellt wurde die Atmung, aerobe und anaerobe Glykolyse sowie die Steilheit des Abfalles, bezogen auf 10^7 Zellen. Weitere Einzelheiten siehe 1. Mitteilung.

Ergebnisse.

1. Behandlung mit Röntgen.

2 Patienten reagierten mit Abfall der Leukozyten, 2 weitere blieben unbeeinflußt.

Abb. 1a zeigt einen Einzelfall, Abb. 2a und b die gemessenen Werte von Zo_2 und $Z_M^{O_2}$ im Verhältnis zu den nach dem Differentialblutbild

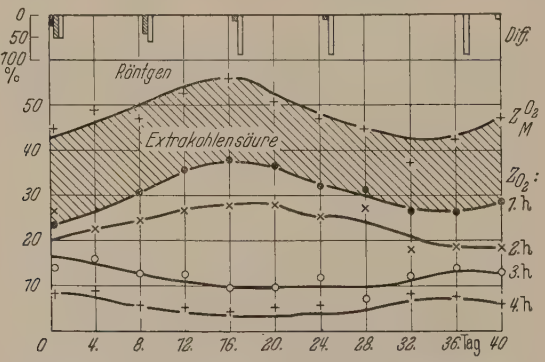


Abb. 1a. Verlauf der Änderung des Differentialblutbildes, der Atmung und aeroben Glykolyse bei Röntgentherapie.

Myeloblasten
Stab- u. Segmentkernige
Myelozyten
Lymphozyten

erwarteten. Tab. 1 zeigt die Durchschnittswerte und den Atmungsabfall in vitro im Verlaufe der Behandlung. Für die Fälle, die auf die Röntgenbehandlung therapeutisch günstig ansprachen, ergibt sich gleichzeitig mit der Verschiebung des Blutbildes zu reiferen Zellen hin eine Steigerung des O_2-Verbrauches. Es ergaben sich jedoch Werte, die über den in Abb. 2a dargestellten „Normalbereich" hinausgehen. Die Steilheit des

Abfalles der Atmung nahm in den ersten 24 Tagen auffallend zu und lag durchweg über dem Vergleichswert. Bemerkenswert ist dabei der Abfall der Werte der 3. Stunde, wodurch sich eine nach oben konkave Kurve ergab. Diese Werte sanken im ersten Teil der Behandlung, unabhängig von der Zellverteilung, ab, um später wieder anzusteigen. Die aerobe Glykolyse (Abb. 1a und 2b) entsprach mit ihren Werten um 20 etwa den nach der Zellverteilung erwarteten und wich nur wenig ab. Bei linksverschobenem Blutbild erschien sie etwas höher, bei rechtsverschobenem etwas geringer. Soweit so geringe Schwankungen verwertbar sind, zeigte sie eine ähnliche Kurve wie der Abfall. Die anaerobe Glykolyse hielt sich innerhalb der Vergleichswerte.

Tabelle 1. *Durchschnittliche Atmungs- und Atmungsabfallwerte myeloischer Leukozyten ohne Behandlung, während Röntgen-, Urethan- und Röntgen-Colchizinbehandlung.*

Verteilung	a		b		c		d		e	
Myeloblasten	50		30		10		—		—	
Myelozyten	30		50		40		40		10—0	
Stab- und Sgt.-K.	20		20		50		60		90—100	
	Zo_2	tg α	Zo_2	tg α	Zo_2	tg α	Zo_2	tg α	Zo_2	tg α
Unbehandelt	18,3	0,52	23,3	0,64	25,1	0,76	24,2	0,9	34,2	1,38
Tage										
Rö. 1—12			29,8	0,85						
13—24					30,5	0,91				
25—40							30,7	0,95	35,1	1,4
Urethan 1—12	19,5	0,61	22,8	0,68						
13—24	17,9	0,56	2,14	0,65	26,5	0,8	26,5	0,99		
25—40							29,2	0,91	34,0	1,35
Rö.+ Colch. 1—12			30,6	0,97	32,1	1,16				
13—24							32,5	1,21		
25—40									28,4	1,2

2. Behandlung mit Urethan.

Auch hier zeigen Abb. 1 und 2a sowie Tab. 1 einen während der Behandlung aufgetretenen Anstieg der Atmung. Er erfolgte hier später und zeigte zum Unterschied von der Röntgenbestrahlung keinen Anstieg über den Normalbereich. Die erhobenen Werte gingen demnach im einzelnen kaum, im Durchschnitt gar nicht über die nach der Zellverteilung erwarteten hinaus. Der Atmungsabfall wies unter Urethan

ebenfalls keine wesentlichen Abweichungen von den Vergleichswerten auf. Die aerobe Glykolyse nahm in der 3. Woche etwas ab, obwohl nach der Zellverteilung eher ein Anstieg zu erwarten wäre (im Durchschnitt

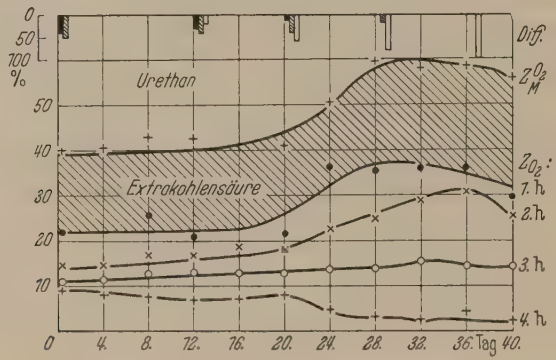


Abb. 1b. Wie Abb. 1a bei Urethanbehandlung.

20%). Ein wesentlich höherer Abfall konnte in keinem Falle beobachtet werden. Die anaerobe Glykolyse sank ebenso in der 3. Woche etwas, wich aber nicht wesentlich von den erwarteten Werten ab.

3. Behandlung mit Röntgen und Colchizin.

In 2 röntgenrefraktären Fällen und in 1 weiteren Fall mit mäßig linksverschobenem Blutbild wurde eine Kombinationsbehandlung durchgeführt[47, 52]. Abb. 1c zeigt einen Fall, der ohne Erfolg auf das

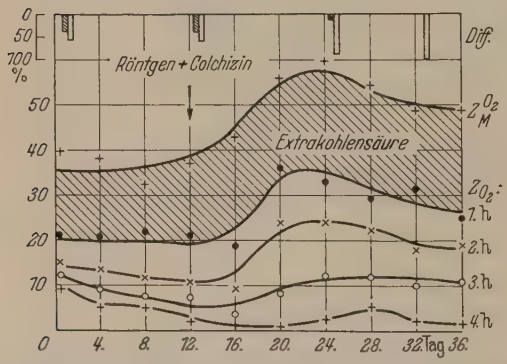


Abb. 1c. Wie Abb. 1a bei zuerst Röntgen- und später Röntgen-Colchizin kombinierter Behandlung.

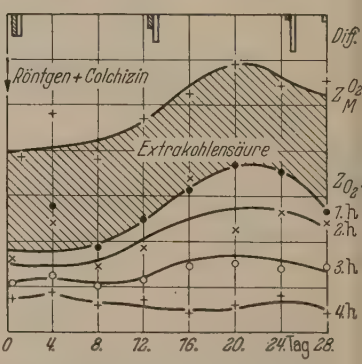


Abb. 1d. Wie Abb. 1a bei Röntgen-Colchizin kombinierter Behandlung.

morphologische Bild bis zum 12. Tag mit Röntgenbestrahlung und dann kombiniert mit Colchizin behandelt wurde. Hier zeigte sich anfangs der bei Röntgen beschriebene Abfall der Atmung ohne Anstieg, während

die Atmungswerte auf Colchizin rasch anstiegen, um gegen Ende der Behandlung wieder abzusinken. Für einen gleich kombiniert behandelten Fall (Abb. 1d) ergaben sich für die zweiten 12 Tage Durchschnittswerte von 31,4, die weit über dem Vergleichswert zwischen 23,3 und 25,1 lagen. Als Atmungsabfall ergaben sich unter Röntgen allein die oben beschriebenen Werte, wobei insbesondere der Wert der 3. Stunde absank. Bei Kombination mit Colchizin wurde sonderbarerweise dieser Abfall aufgehoben und trat bei kombinierter Behandlung von Anfang an nicht in Erscheinung. Die Werte der 3. Stunde schienen hier sogar anzusteigen. Die Glykolysen wiesen ähnliche Werte wie unter Röntgen auf.

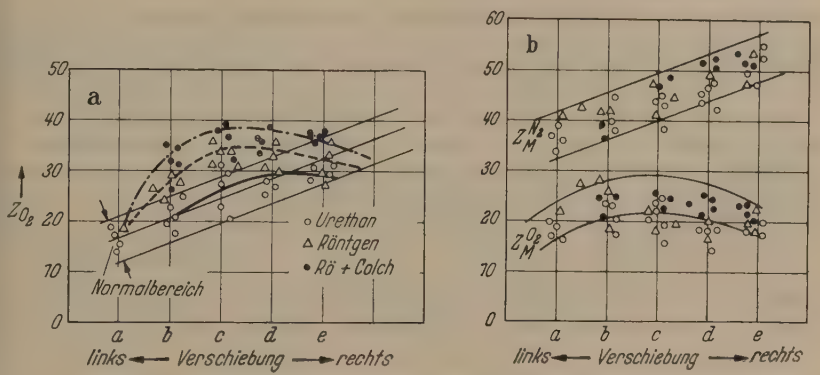


Abb. 2. a) Gemessene Atmungswerte gegenüber dem Normalbereich unter Behandlung in Abhängigkeit von der Zellverteilung. b) Aerobe und anaerobe Glykolyse.

Diskussion.

Gleichzeitig mit der Verschiebung der Zellverteilung zu reifen Formen zeigte sich bei sämtlichen Behandlungsarten ein Atmungsanstieg und eine Zunahme der Steilheit des Abfalles. Auch die Glykolysen, insbesondere die anaerobe, verschoben sich in der Richtung der nach der Zellverteilung erwarteten Werte.

Bei der Behandlung mit Urethan konnte im einzelnen eine, wenn auch geringe, Atmungssteigerung gefunden werden[34], die im Durchschnitt aber nicht höher als die erwartete war. Die aerobe Glykolyse lag wenig unter den Vergleichswerten, und in keinem Falle fehlte sie bei myeloischen Zellen.

Die mehrfach beschriebene Atmungssteigerung nach kleinen Dosen Urethan in vitro erscheint uns als unspezifische Schädigung geringen Grades [9, 48–50]. Es wurde eine Verdrängung von Lipoidsubstanzen der Zelloberfläche durch Urethan und damit der Änderung der Oberflächenspannung der Zelle als Ursache der Atmungssteigerung angenommen[51]. Wir konnten bei in vitro Versuchen mit geringen Dosen Urethan ebenfalls eine Atmungssteigerung beobachten, sie beschränkte

sich aber, soweit wir bisher feststellen konnten, nicht nur auf Elemente, die einer Urethanbehandlung zugänglich waren, sondern auf alle Leukozyten und auch auf andere Gewebe, wenn die Dosis entsprechend variiert wurde.

Bei der Behandlung mit Röntgenbestrahlung der Milz zeigten die Zellsuspensionen der Leukozyten deutliche Unterschiede gegenüber den nach der Zellverteilung erwarteten Werten. Der deutlich steilere Atmungsabfall in vitro ohne eine Veränderung des Differentialblutbildes spricht für eine Schädigung der zirkulierenden Leukozyten durch Röntgenstrahlung, um so mehr, als diese Störung bereits nach 1 bzw. 2 Bestrahlungen auftrat.

Die Atmungssteigerung kann teils auf das Auftreten absterbender und geschädigter Zellen, teils auf die Miteinbringung von stoffwechselschädigenden Substanzen, die sich durch die Röntgenbestrahlung gebildet haben, beruhen, wobei allerdings die Bildung von Zellen abweichenden Stoffwechsels durch den Einfluß von Röntgenstrahlen auf die Blutbildungsstätten nicht ausgeschlossen werden kann. Aus dem Zeitpunkt des Auftretens und Verschwindens der Stoffwechselerhöhung und des steileren Abfalles ist eher auf eine indirekte Schädigung der Zelle zu schließen, da die Bildung abnormer Zellen bei fortgesetzter Behandlung zu- und nicht abnehmen würde und außerdem röntgenrefraktäre Fälle den gleichen Abfall zeigen und hier eine Einwirkung auf die Blutbildungsstätten auszuschließen ist.

Die aerobe Glykolyse verhält sich ähnlich wie bei Urethanbehandlung. Es scheint sich bei dieser Senkung um einen mehr oder weniger intakten Pasteurmechanismus zu handeln, wodurch sich die Senkung der aeroben Glykolyse direkt aus der Atmungssteigerung erklären würde.

Bei Behandlung mit Colchizin und Röntgenbestrahlung ergibt sich eine potenzierte Röntgenwirkung auf den Zellstoffwechsel. Ein Unterschied scheint in der Art des Atmungsabfalles zu bestehen, da es eher zu einem Ansteigen der Werte der 3. Stunde kommt.

Es kann dies so erklärt werden, daß bei der Kombination des Colchizins die Wirkung auf die Blutbildungsstätten verstärkt und bald in Erscheinung tritt und damit die Wirkung der Röntgenbestrahlung auf die Peripherie überdeckt wird.

Damit scheinen unsere Untersuchungen des Stoffwechsels der Leukozyten die bei myeloischen Leukämien klinisch begründete Annahme einer Potenzierung der Röntgenwirkung in Kombination mit Colchizin experimentell zu bestätigen[47].

In unserer 1. Mitteilung wurde der mehr oder weniger steile Abfall der Atmung bei hohen Anfangswerten mit dem Schädigungsstoffwechsel nach Druckrey in Beziehung gebracht, und es erscheint notwendig, auch die hier beobachteten Steigerungen der Atmung bei steilerem Abfall auf „Schädigungsstoffwechsel" zu beziehen. Für diese Auffassung spricht auch die morphologische Betrachtung der Leukozyten nach Röntgenbestrahlung bzw. nach kombinierter Behandlung mit Colchizin. Man sieht Vakuolisierung des Protoplasmas, Auftreten von groben Granula, Chromatinverklumpungen und stellenweise Kernwandhyper-

chromatosen, welche Zeichen allgemein als Schädigung gedeutet werden. Auffallenderweise sind diese Veränderungen unter der Urethantherapie nicht so ausgeprägt zu beobachten.

Der Begriff „Tumorstoffwechsel" scheint, wie es auch aus unserer 1. Mitteilung hervorgeht, auf Leukozyten nicht anwendbar zu sein. Es ist daher auch nicht möglich, aus Veränderungen, die mehr oder weniger diesem Stoffwechseltypus entsprechen, irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Die während der Therapie der Leukämie auftretende abnehmende Ähnlichkeit erklärt sich vorwiegend aus der Zellverteilung wie beim Urethan, zum anderen Teil aus einer Schädigung der Zellen wie bei Röntgen und in erhöhtem Maße bei der Kombinationstherapie mit Colchizin.

Zusammenfassung.

An Leukozytensuspensionen von 12 Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie nach Behandlung mit Röntgenbestrahlung der Milz, Urethan, Röntgen und Colchizin wurden Atmung, aerobe und anaerobe Glykolyse nach Warburg bestimmt.

Auf Behandlung mit Urethan traten nur kleine Schwankungen um den nach der Zellverteilung erwarteten Wert auf, während nach Röntgen und in verstärktem Maße bei Kombination mit Colchizin eine Atmungssteigerung beobachtet werden konnte. Die aerobe Glykolyse wurde bei allen Therapien etwas gesenkt, die anaerobe blieb unbeeinflußt.

Die beobachtete Atmungssteigerung wurde als Schädigungsstoffwechsel gedeutet, ein Zusammenhang mit dem Tumorstoffwechsel wurde abgelehnt.

Literatur.

[1] Grafe, E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **102**, 406 (1911). — [2] Middleton, W., O. O. Meyer and E. A. Pohle: Radiology, **26**, 586 (1936). — [3] De Lucia, P.: Boll. Soc. ital. sper. **16**, 454 (1941). — [4] Inouye, K.: Klin. Wschr. **15**, 613 (1936). — [5] Inouye, K.: Strahlenther. **55**, 409 (1936). — [6] Inouye, K., u. H. Vollmar: Arch. exper. Zellforschg. **23**, 27 (1939). — [7] Rajewsky, B.: Naturforschung und Medizin in Deutschland, Bd. 21, I (1947). Wiesbaden: Dieterich. — [8] Brock, N., H. Druckrey, u. H. Herken: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 451 (1938). — [9] Eichholz, F., u. K. Baumgart: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **178**, 161 (1935). — [10] Fleischmann, W., u. D. Laszlo: Klin. Wschr. **1937/II**, 1248. — [11] Fleischmann, W., u. D. Laszlos: Fortschr. Röntgenstr. **56**, 55 (1937). — [12] Milani, E.: Scr. ital. Radiobiol. med. **3**, 199 (1936). — [13] Bellucci, B.: Strahlenther. **65**, 547 (1939). — [14] Bancroft, G., u. V. E. Kinsey: Biochemic. J. **31**, 974 (1937). — [15] Stekol, J.: J. of biol. Chem. **173**, 153 (1948). — [16] Lutwak-Mann, C., u. F. W. Gunz: Biochemic. J. **44**, III (1949). — [17] Wilson, J. E., u. V. Du Vigneaud: Science **107**, 653 (1948). — [18] Berner, F.: Strahlenther. **71**, 1 (1942). — [19] Warschawskaja, B. B.: Fortschr. Röntgenstr. **39**, 458 (1929). — [20] Fujita, U.: Jap. J. Obstetr. **19**, 624 (1936). Ref.: Zbl. ges. Radiol. **25**, 56 (1937). — [21] Loeper, M., u. Ch. Bach: Paris. med. **1942/I**, 93. — [22] Jeney, v.A., T. v. Valyi-Nagy, J. Magyari, u. J. Mihalik: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 437 (1941). — [23] Edelbacher, S., u. H. Wiss: Helvet. phys. pharm. Acta **4**, 910 (1946). — [24] Halberstädter, L., u. A. Simons: in Handb. der allg. Hämatologie, Bd. I/2, Urban & Schwarzenberg (1933). — [25] Gregori, A.: Strahlenther. **65**, 163 (1939). — [26] Wernicke, E.: Kiel, Diss. 1938. Zbl. Radiol. **30**, 629 (1940). — [27] Becker, K.: Kiel,

Diss. 1939, Ber. Phys. exper. Pharm. **117**, 75 (1940). — [28] Denstad, J.: Acta radiol. Suppl. L II (1943). — [29] Schreck, R.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **58**, 285 (1945). — [30] Moeschlin, S.: Helvet. med. Acta **14**, 279 (1947). — [31] Dustin, P. jun.: Brit. J. Canc. **1**, 48 (1947). — [32] Schulze, E.: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 153. — [33] Haddow, A., u. W. A. Sexton: Nature **157**, 500 (1946). — [34] Fellinger, K., u. J. Schmid: Wien. Z. inn. Med. **29**, 254 (1948). — [35] Bodine, J. H., u. L. R. Fitzgerald: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **69**, 442 (1948). — [36] Boyland, E., u. E. Rhoden: Biochemic. J. **42**, 58 (1948). — [37] Fisher, K. C., u. R. J. Henry: J. gen. Physiol. **27**, 469 (1944). — [38] Lutwak-Mann, C.: Biochemic. J. **41**, XXX (1947). — [39] Bork, H. E.: Klin. Wschr. **25/26**, 390 (1948). — [40] Meyerhof, O., u. J. R. Wilson: Arch. Biochem. **17**, 153 (1948). — [41] Guggenheim, u. Fröhlich: zit. nach Heilmeyer, L.: Med. Klin. **182**, 339 (1947). — [42] Lipschütz, u. Peng: zit. nach Heilmeyer [41]. — [43] Brock, N., H. Druckrey, u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [44] Bonetti, E., u. Illenyi, A.: Zbl. Bakter. I. **148**, 114 (1941). — [45] Boyland, E., u. M. E. Boyland: Biochemic. J. **31**, 454 (1937). — [46] Brodersen, H.: Strahlenther. **73**, 196 (1943). — [47] Keibl, E., u. A. Lötsch: Schweiz. med. Wschr. **9**, 228 (1950). — [48] Locker, A., H. Siedek, u. K. H. Spitzy: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 281 (1950). — [49] Benda, L., A. Locker, u. E. Rissel: im Erscheinen. — [50] Holtz, P., M. Exner, u. H. J. Schürmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 243 (1948). — [51] Schmid, J.: Wien. Z. inn. Med. **29**, 389 (1948). — [52] Keibl, E.: Wien. klin. Wschr. **12** (1950).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 373—386 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Zur Frage der Sensibilisierung von Vaguswirkungen auf die Herzfrequenz durch Digitalis*.

Von
L. Lendle und H. Wienke.

(Eingegangen am 20. Februar 1951.)

Wenn Digitalisstoffe eine Elementarwirkung auf die Herzfrequenz über den Vagus ausüben sollen, dann könnten diese Wirkungen an der Ratte, bei welcher wegen der hohen Resistenz ihres Herzens besonders große Gaben zugeführt werden können, auch besonders deutlich werden. Oldenburg und Lendle[1] haben im Rahmen von Prüfungen extrakardialer Digitaliswirkungen aber keinen Befund erheben können, der in einem solchen Sinne gedeutet werden könnte. Sie vermuteten, daß vielleicht lediglich eine toxische Digitalis-Bradykardie reflektorisch über den Vagus zustande kommt. Eine Sensibilisierung des Herzmuskels für Vagusreize halten sie auch nach Beobachtungen von Hohensee und Lendle[2] für unwahrscheinlich.

Diese negativen Befunde an Ratten sprechen auch wohl grundsätzlich gegen die Möglichkeit einer Hemmung der Azetylcholinesterase als Ursache der Digitalis-Bradykardie, denn dann hätte bei diesen ungewöhnlich hohen Digitalisgaben eine verstärkte Vaguswirkung zur Geltung kommen müssen. Diese Auffassung, daß Digitalis eine allgemeine Vaguswirkung über eine Blockade der Esterase auslösen kann, ist aber erst vor wenigen Jahren noch einmal ausdrücklich behauptet worden von Danielopolu[3], der die gesamte Kreislaufwirkung der Digitalis allein über das vegetative Nervensystem zu erklären versuchte. Neben dieser sehr hypothetischen Auffassung muß auch noch eine neue Angabe von Chen und Geiling[4] über eine Esterasehemmung durch toxische Digitalisgaben erwähnt werden. Die beiden Autoren kündigen die Veröffentlichung dieser Ergebnisse erst an.

Heim und Baender[5] haben sich bemüht, die Gremelssche Theorie[6-8] der Digitaliswirkung über eine Sensibilisierung des Vagus erneut zu bestätigen. Sie konnten aber in Versuchen an Katzen mit ungeschädigtem Herzen bei elektrischer Reizprüfung selbst keine Vagussensibilisierung nach Strophanthin erzielen. In der Annahme, daß die Vagussensibilisierung durch Digitalis vom Funktionszustand des Herzens abhängig sein könne, prüften sie das Verhalten an Tieren, die sie 24 Std lang in tiefer Narkose mit Pernokton-Dauerinfusion hielten und weiterhin durch Aderlässe schädigten. Hierbei dürfte es aber kaum allein zu einer Herzschädigung gekommen sein. In den zwei besprochenen Versuchen waren die Blutdruckwerte jedenfalls sehr niedrig (60 bzw. 30 mm). Nach Strophanthingaben sahen sie mit Verbesserung des Kreislaufs wenigstens vorübergehend eine Verminderung der Vagusreizschwelle.

* Herrn Professor Dr. S. Janssen, Freiburg/Br., zum 60. Geburtstag gewidmet.

Man könnte zur Erklärung dieser Beobachtungen vielleicht, weil nach Erfahrungen von Gollwitzer-Meier[9] das insuffiziente Herz sich extrakardialen nervösen Einflüssen entzieht, daran denken, daß mit Verbesserung der Herzleistung nach Digitalis eine Vaguswirkung wieder zur Geltung kam. Dann wäre dies aber keine echte Vagussensibilisierung im Sinne von Gremels und sie wäre auch nicht der Weg, auf welchem Digitalis die Herzleistung bessert, sondern sie wäre ja selbst die Folge einer primären Leistungssteigerung des Herzens nach Digitalis.

Wir bemühten uns, eine etwaige Sensibilisierung für Azetylcholin durch Digitalisglykoside bei verschiedenen Tierarten unter verschiedenen Digitalisdosierungen zu erfassen. Für diesen Zweck benutzten wir die Registrierung der Herzaktionsströme, um damit die Herzfrequenz nach intravenöser Injektion steigender Mengen von Azetylcholin am intakten Tier exakt zu ermitteln.

Es bestand ferner die Absicht, bei Auftreten einer toxischen Digitalis-Bradykardie zu prüfen, ob diese vielleicht als kardiokardialer Hemmungsreflex im Sinne von Bezold-Jarisch[10, 11] zustande kommt. Nach neuen Untersuchungen von Eichholtz, Fleckenstein und Muschawek[12, 13] gelingt es, diesen nach Veratrin auftretenden Reflex durch Gaben von Novocain, Ca, Mg usw. aufzuheben. Man könnte also dieses Verfahren auch für Digitalisglykoside prüfen. Die Analogie zwischen Digitalis und Veratrin hat eine gewisse theoretische Berechtigung, weil das Veratrin auch eine Steroidverbindung ist und ebenso wie das Solanin dem Digitalis nahe steht (Literatur zu diesen Angaben findet sich bei Krayer[14]). F. Zipf und H. Ehrlicher[15] haben diese Annahme neuerdings nicht bestätigt und festgestellt, daß die toxische Digitalis-Bradykardie über den Depressor hauptsächlich vom Aortenbogen aus ausgelöst wird.

Versuchsanordnung.

Gremels hatte seine Versuche zum Nachweis der Sensibilisierung des Vagus am freigelegten Warmblüterherzen unter Registrierungen der Herzfrequenz mittels Kontakthebel und Ordinatenschreiber ermittelt. Dabei hatte er die Vagusempfindlichkeit bei elektrischer Reizung des Vagusstammes festgestellt. Wir registrierten die Herzfrequenz im EKG am intakten narkotisierten Tier und benutzten als Vagusreiz gestufte Gaben von Azetylcholin. Dabei konnten auch die weiteren Veränderungen der Aktionsstromkurve neben der Pulsverlangsamung registriert werden. Als Versuchstiere dienten uns Ratten, Meerschweinchen, Katzen und Hunde, gelegentlich Kaninchen.

Zur Narkose wurde den Ratten und Meerschweinchen 1,25 g/kg Urethan in einer 25%igen Lösung subkutan, den Katzen 0,08 g/kg Chloralose + 0,5 g/kg Urethan intramuskulär, den Hunden 25 mg/kg Eunarkon intravenös + 25 mg/kg Pernokton intramuskulär, den Kaninchen 1,0 g/kg Urethan intravenös + 0,3 g/kg Urethan intramuskulär injiziert. Nach einer Stunde erfolgte die Fixierung auf einem Präparations-

brett und die Einbindung einer Hahnkanüle in die Vena jugularis. Durch Bestrahlen mit einer Heizsonne und 60 Watt Glühbirnen konnte die Temperatur dauernd auf physiologischen Werten gehalten werden. Kontrolle erfolgte durch rektale Messung. Bei diesem Vorgehen zeigte die Narkose keine Auswirkungen auf das EKG im Sinne einer Bradykardie oder von Formänderungen.

Unter Abschirmung störender Außenströme erfolgte die Ableitung im Faraday-schen Käfig mittels *Siemens-Reiniger-Elektrokardiographen* (2-Koffer-Modell)*. Feine silberne Nadelelektroden, flach unter die Haut eingestochen, boten — wie schon Straub[16] beschreibt — Vorteile gegenüber Plattenelektroden. Als günstigste Ableitung für die Auszählung der Frequenz wurde immer die zweite Ableitung (rechter Arm, linkes Bein) verwendet.

Als Grundlage für die späteren Berechnungen wurde die „Normalfrequenz" geschrieben und im weiteren Versuchsablauf unter gleichzeitiger Injektion steigender Mengen einer frisch bereiteten Acetylcholin-Ringer-Lösung (0,25—10 γ pro kg, beim Hund bis 32 γ pro kg) abgeleitet. Die Wirkungen der Injektionen ließen sich bereits am Lichtpunkt des EKGs ablesen. Nach Festlegung einer deutlich wirksamen Azetylcholindosis erfolgte die Verabreichung des Digitalisglykosides in steigenden Dosen i. v. und in zeitlichen Abständen davon jeweils eine neue Prüfung der Azetylcholinempfindlichkeit.

Tabelle 1. *EKG-Befunde unter Azetylcholin.*

Versuchsbedingungen			Änderungen unter Azetylcholin						
k-Strophanthin-mg/kg	Zeit nach Stroph. min	Frequenz		Azetylcholindos.: γ/kg 0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0
—	0	312	Durchschnittl. Vorhoffrequenz	245	273	240	206	186	177
			Minimale Kammerfreq.	108	100	75	66	58	56
			Blockanzahl	1	2	5	6	8	8
			Bradykardie Dauer (sec)	3,2	4,4	4,9	3,9	5,2	5,7
0,1	60	288	Durchschnittl. Vorhoffrequenz	265	268	238	215	197	150
			Minimale Kammerfreq.	102	110	86	83	71	50
			Blockanzahl	—	2	2	7	9	11
			Bradykardie Dauer (sec)	3,4	4,5	4,6	5,5	4,6	6,7
0,2	120	254	Durchschnittl. Vorhoffrequenz	241	222	210	207	176	144
			Minimale Kammerfreq.	114	104	82	80	66	58
			Blockanzahl	2	1	4	5	6	13
			Bradykardie Dauer (sec)	3,1	2,8	3,9	4,4	5,0	7,1
0,3	180	208	Durchschnittl. Vorhoffrequenz	198	207	179	152	140	126
			Minimale Kammerfreq.	95	86	82	61	50	54
			Blockanzahl	2	3	2	5	8	9
			Bradykardie Dauer (sec)	3,1	3,6	4,1	4,2	5,1	4,8

* Der *Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft* sei für die Überlassung des Gerätes gedankt.

I. Azetylcholinempfindlichkeit vor und nach Strophanthin und Digitoxin.

Im Anschluß an die vorausgegangene Darstellung der Versuchsanordnung sei ein Versuch am Meerschweinchen tabellarisch zusammengefaßt, um den Gang der Auswertung zu zeigen. Zur Erklärung ist noch zu sagen, daß in der Tabelle 1 die „minimale Kammerfrequenz" als der größte Abstand von RR angegeben wurde, während für die Vorhofsfrequenz Durchschnittswerte im Bereich der Bradykardie ausgezählt wurden. Alle diese Werte wurden bei steigender Azetylcholinbelastung ermittelt, um die Empfindlichkeitsgrenze für Azetylcholin zu erfassen.

Ergebnis: Die Herzfrequenz sinkt unter der k-Strophanthinbehandlung allmählich um mehr als 30%. Die Grenzdosierung von Azetylcholin, die eine sichere Verlangsamung auslöst, liegt in allen Stadien der zunehmenden k-Strophanthinwirkung bei 0,5 γ/kg. Im übrigen sieht man mit steigenden Azetylcholingaben proportional eine zunehmende Verlangsamung der Schlagfolge, das Auftreten von Extrasystolen und eine Verlängerung der negativ chronotropen Reaktion. Es liegt aber keine erkennbare „Sensibilisierung" für den Vaguseffekt des Azetylcholins nach K-Strophanthinbehandlung vor.

Tabelle 2. *Bradykardie und EKG-Änderungen durch Azetylcholin-Injektionen nach Digitalisvorbehandlung.*

Nr.	Glykosid mg/kg	Herzfrequenz vor und nach Digitalis		Azetylcholingrenze in γ/kg vor und nach Digitalis		Änderungen unter Azetylch. nach Digitalis		
						Vorhoffrequenz	Block-Vermehrg.	Dauer d. Bradykard.
I	k-Strophanthin 0,3	303	287 242 194	0,5	1,0 0,5 0,5	wenig	etwas	verlängert
II	k-Strophanthin 0,3	246	222 210 184	1,0	0,5 1,0 0,5	nicht	nicht	nicht
III	k-Strophanthin 0,3	312	288 254 208	0,5	0,5 0,5 0,5	sinkt um 30%	nicht	nicht
IV	k-Strophanthin 0,3	306	300 228 202	2,0	0,5 0,5 1,0	nicht	nicht	nicht
VIII	k-Strophanthin 0,4	256	210 188 142	0,5	1,0 0,5 0,5	wenig	nicht	verlängert
IX	k-Strophanthin 0,4	284	272 218 156	1,0	1,0 1,0 0,5	wenig	etwas	nicht

Nr.	Glykosid mg/kg	Herzfrequenz vor und nach Digitalis		Azetylcholingrenze in γ/kg vor und nach Digitalis		Änderungen unter Azetylch. nach Digitalis		
						Vorhoffrequenz	Blockvermehrg.	Dauer d. Bradykard.
V	Digitoxin	312	310		2,0			
	0,5		286	2,0	1,0	nicht	nicht	nicht
			270		1,0			
			258		2,0			
VI	Digitoxin	293	298		0,5			
	0,5		270	0,5	0,5	nicht	nicht	nicht
			272		0,5			
			234					
VII	Digitoxin	274	293		1,0			
	0,5		250		1,0			
			235	2,0	0,5	nicht	nicht	nicht
			206					
			190					
			182					
X	Digitoxin	290	292		0,5			
	0,8		274		0,5			
			241	1,0	1,0	wenig	etwas	nicht
			212		0,5			
			230		0,5			
			274		0,5			
			306		1,0			
			352					

In der gleichen Weise wurden zahlreiche Versuche an verschiedenen Tierarten ausgeführt, deren Auswertungsergebnisse nur in kurzer tabellarischer Zusammenfassung wiedergegeben werden können, zunächst für 10 Meerschweinchenversuche (Tab. 2).

In dieser Tabelle sind bei der Dosierung der Glykoside nur die Gesamtdosen angegeben, ihre Aufteilung in Einzelgaben läßt sich erkennen aus der Anzahl der Angaben von Frequenzwerten, die jeweils 60 min nach den Teildosen ermittelt wurden. Die letzten 3 Spalten der Tabelle bringen in Stichworten Angaben über etwaige Abweichungen der Azetylcholineffekte unter der Digitalisbehandlung gegenüber dem Verhalten vor der Digitalisbehandlung.

Ergebnis: Selbst nach Injektion hoher Dosen k-Strophanthin und Digitoxin mit deutlicher Bradykardie trat keine wesentliche Veränderung der Azetylcholinempfindlichkeit ein, auch keine typische Änderung im Verhalten der Aktionsstromkurven unter der Belastung mit Azetylcholin.

Im Verlauf unserer Untersuchungen über die Wirkung steigender Glykosiddosen bei verschiedenen Tierarten auf Pulsfrequenz, EKG-Befund und Reaktionsfähigkeit gegen Azetylcholin haben wir die in Tab. 3 zusammengefaßten Befunde erhoben. Darin sind nur die Ergebnisse für die höchste verabreichte Glykosidmenge, angegeben in Prozent der tödlichen Dosierung, benutzt.

Tabelle 3. *EKG-Veränderungen unter k-Strophanthin und Digitoxin.*

Tierart	Glykosid	Dosis % letal	Brady-kardie*	Tachy-kardie*	Azetylcholinwirkung nach Digitalis Grenzdosis γ/kg vor Dig.	nach Dig.	Irregularitäten und Deformierung im EKG
Ratten	k-Strophanthin	25	—	—	1	1	geringe Blockvermehr.
	„	41	—	—	2	1	—
	„	63	—	±	1	0,5	100% Blockvermehr. Bradyk. verlängert
	Digitoxin	20	±	—	1	0,5	—
	„	20	±	—	2	1	—
	„	100	—	±	7	5	geringe Blockvermehr.
Meerschweinchen	k-Strophanthin	55	+	—	0,5	1,0	—
	„	55	(+)	—	1,0	0,5	—
	„	55	(+)	—	0,5	0,5	Sinken der Vorhoffreq.
	„	55	+	—	2,0	0,5	—
	„	73	+	—	0,5	1,0	Abnahme der Vorhoffrequenz, häuf. Blocks
	„	73	(+)	—	1,0	0,5	Abnahme der Vorhoffrequenz, Bradykard. verläng., häuf. Blocks
	Digitoxin	46	±	—	2,0	1,0	—
	„	46	(+)	—	0,5	0,5	—
	„	46	±	—	2,0	0,5	—
	„	74	±	±	1,0	0,5	Abnahme der Vorhoffrequenz
Katzen	g-Strophanthin	53	(+)	—	2,0	2,0	reichlich Extrasystolen
	Digitoxin	109	(+)	±	2,0	4,0	Irregularitäten versch. Art, Flimmern, Flattern, Extrasystolen
Hunde	g-Strophanthin	48	(+)	—	1,0	2,0	Extrasystolen
	„	72	+	±	2,0	4,0	Irreg. und Deform.
Kaninch.	g-Strophanthin	45	(+)	—	2,0	2,0	—

* + bedeutet > 30%, (+) bedeutet > 20%, ± bedeutet > 10%.

Ergebnisse: Deutliche Bradykardie erfolgte meist erst ab etwa 50% der tödlichen Dosis. Eine toxische Tachykardie trat nur selten ein, und zwar erst nach höheren Dosen, ab etwa 70% letal. Vielleicht war die Neigung zur Bradykardie bei Ratten etwas geringer. Ein Beweis, daß Digitoxin die Pulsfrequenz stärker als k-Strophanthin vermindert, geht aus unseren Versuchsergebnissen nicht hervor.

Alle Tiere sprachen auf Azetylcholin vor und nach k-Strophanthin und Digitalis gleichartig an. Die Grenzdosierung lag mit einer Ausnahme (bei Ratten) zwischen 0,5—2 γ/kg vor und nach Digitalisbehandlung. In 10 Fällen war die Azetylcholingrenzdosis nach Digitalis auf die Hälfte vermindert, in 10 Fällen auf das Doppelte erhöht. Vielleicht ist es

bemerkenswert, daß gerade bei Hunden und Katzen die Azetylcholinempfindlichkeit nach Digitalis vermindert erschien.

Die gelegentlich verstärkten Irregularitäten und Deformierungen unter Azetylcholin und Digitalisierung sind wohl kaum als eine Verstärkung der Azetylcholinwirkung selbst zu erklären, sondern im Gegenteil durch Verstärkung der schon bestehenden Digitalisschädigungen infolge einer Coronardrosselung durch weitere Azetylcholingaben. Diese Wirkungen traten auch vorwiegend bei Vorbehandlung mit hohen Glykosiddosen ein.

Über besondere Beobachtungen im EKG seien einige Angaben beigefügt:

Im Gegensatz zu allen anderen Tieren ist das Elektrokardiogramm der Ratte durch ihre hohe Digitalisresistenz gekennzeichnet (Tabelle siehe Diss. Oldenburg[17]). In Übereinstimmung mit dieser geringen Herzwirksamkeit steht selbst unter toxischen Dosen das völlige Fehlen von Deformierungen des Kammeranteiles, Umkehr der T-Zacke usw., nur einige Male kommt es zur Umkehr der P-Zacke. Die Azetylcholinwirkung äußert sich in einer Blockierung der Überleitung vom Vorhof zur Kammer. An der unteren Grenze treten einzelne Blocks auf, die mit steigender Dosis bei regelmäßiger Schreibung der Vorhofzacke in Zahl und Dauer zunehmen. Es tritt also — im Gegensatz zu den anderen Tieren — bis in den subletalen Dosierungsbereich eine mit den Azetylcholindosen ziemlich proportional zunehmende „Blockbradykardie" auf, ohne Veränderung des QRS- und ST-Komplexes.

Beim Meerschweinchen wurden bereits nach 50% der letalen Dosis, sowohl unter k-Strophanthin als auch unter Digitoxin, QT- und PQ-Verlängerungen sowie ST-Senkungen gesehen. 80% ergaben in einigen Fällen Abflachung (Plateauverlust) bzw. Negativierung von T und vereinzelte Extrasystolen.

Das Elektrokardiogramm der Katze zeigte noch früher Auftreten von Kammerautomatien, wenn auch beträchtliche Unterschiede unter den einzelnen Tieren und Glykosiden bestanden. PQ- und QT-Verlängerungen begannen auch etwa um 50% der Letaldosis. Deformierungen aller Art und Irregularitäten traten schon bei 60—90% der letalen Dosis auf. Unter Azetylcholin wurden diese Irregularitäten teilweise noch deutlicher.

Am Hund wurden nur zwei Versuche ausgeführt, aus denen sich keine verallgemeinernden Schlüsse ziehen lassen. Es war nur auffällig, daß sich keine Bradykardie aufzeigen ließ und sehr früh (30% let. Dos.) Kammerautomatien und Tachykardie (65% let. Dos.) zu sehen waren.

II. Versuche zur Aufhebung der toxischen Digitalis-Bradykardie mit Novocain.

Einleitend ist auf die Möglichkeit hingewiesen worden, die toxische Digitalisbradykardie als kardio-kardialen Hemmungsreflex in Analogie zum Bezold-Jarisch-Reflex aufzufassen, für welchen eine Aufhebung durch lokalanästhetische Stoffe nachgewiesen wurde (vgl. oben S. 374). Es lag daher nahe, im Anschluß an die vorausgehenden Erfahrungen im EKG zu prüfen, ob Novocaingaben eine toxische Digitalis-Bradykardie aufheben können.

Versuchstiere waren Meerschweinchen. Die operative Vorbereitung und Versuchsanordnung waren die gleiche wie im Teil I. Bei allen Versuchen wurde zunächst der Einfluß von Novocain in je 1 oder 2 Gaben von 5—30 mg/kg steigend auf die

Normalfrequenz geprüft. Danach wurden g-Strophanthin in 2 oder 3 Teildosen langsam intravenös im Abstand von 60 min injiziert, so daß nach einer Vorperiode von 120—180 min der Bradykardieeffekt eintreten konnte. Es waren dafür Mengen von $^2/_3$ der tödlichen Dosierungen (0,17 mg/kg g-Strophanthin) erforderlich. Nunmehr wurden im Abstand von mindestens 60 min steigende Novocaingaben intravenös verabreicht.

Die Vorversuche mit Novocain ergaben, daß dieser Stoff in der geprüften Dosierung von 5—30 mg/kg in allen Fällen die Herzfrequenz verminderte (vgl. Tab. 4). Die Wirkung ging nicht unbedingt der Dosierung parallel, sondern hing offensichtlich auch von der Ausgangslage der Frequenz ab. Die Atmung zeigt mit Ausnahme des Versuches mit der kleinsten Dosis auch immer eine geringe Frequenzverminderung. Im EKG ließ sich, besonders bei den höheren Dosierungen, eine Verlängerung von QRS und eine mäßige Verlängerung von PQ ermitteln.

Tabelle 4. *Novocain am Meerschweinchen i.v.*

Herz und Atmung Änderungen		Nr. I		II		III	IV	V
		Novocain. hydr. mg/kg						
		5,0	10,0	15,0	20,0	25	30	25
Herzfrequenz	vorher	266	252	279	257	286	292	262
	nachher	240	233	182	200	221	246	244
QRS	vorher	0,03	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03
	nachher	0,03	0,03	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04
PQ	vorher	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05
	nachher	0,06	0,05	0,07	0,06	0,065	0,08	0,06
Atmungs-	vorher	60	66	66	58	78	86	84
frequenz	nachher	58	62	48	50	62	68	80

Die Tiere zeigten auch bei wiederholten Novocain-Injektionen keine wesentlichen Vergiftungserscheinungen. Nach Riechert[18] ist auch bei schneller Injektion (60 sec) Novocain erst mit 50—60 mg/kg tödlich. Wir injizierten in etwa 5 min. In den genannten Versuchen von Eichholtz und Mitarbeiter[12, 13] waren für die Beeinflussung des Bezold-Jarisch-Reflexes Dosen von 15 mg/kg und mehr erforderlich gewesen.

Aus Tab. 5 lassen sich für die Versuche mit Novocain bei g-Strophanthinvorbehandelten Tieren folgende Ergebnisse ableiten:

1. In allen 5 Versuchen bestand nach g-Strophanthingaben eine mäßige Bradykardie und Verminderung der Atmungsfrequenz.

2. Novocain steigerte ab 15 mg/kg immer die Pulsfrequenz innerhalb von 5—10 min. Es wurden häufig die Ausgangswerte nahezu erreicht. Die Atmung wurde etwas gesteigert oder blieb unverändert.

3. QRS war nach g-Strophanthin kaum verlängert, wurde aber nach Novocain deutlich verlängert (trotz Frequenzsteigerung).

Tabelle 5. *Novocain bei Digitalisvergiftung* (am Meerschweinchen).

Versuchsbedingungen		EKG-Befund:			
Zeit min	Novokain mg/kg	Frequenz	QRS	PQ	Atmung
Vorperiode		286	0,02	0,045	102
		$^2/_3$ letale Strophanthindosis in 2 Teildosen mit 60 min Abstand			
120		202	0,03	0,06	82
	20	264 n. 10 min	0,03 n. 2 min	0,05 n. 2 min	88 n. 10 min
180		208	0,03	0,06	80
	25	246 n. 10 min	0,05 n. 2 min	0,05 n. 7 min	80 n. 10 min
240		217	0,02	0,06	74
	30	238 n. 7 min	0,06 n. 2 min	0,05 n. 7 min	78 n. 10 min
Vorperiode		245	0,03	0,06	84
		$^2/_3$ letale Strophanthindosis in 2 Teildosen mit 60 min Abstand			
120		210	0,03	0,07	66
	15	240 n. 3 min	0,03 n. 2 min	0,06 n. 3 min	74 n. 3 min
180		208	0,03	0,07	58
	20	234 n. 5 min	0,04 n. 2 min	0,06 n. 2 min	66 n. 5 min
240		191	0,04	0,09	56*
	25	264 n. 6 min	0,09 n. 2 min	0,06 n. 3 min	78 n. 5 min
300		214	0,04	0,06	60
	30	252 n. 10 min	0,1 n. 2 min	0,06 n. 3 min	68 n. 7 min
Vorperiode		263	0,02	0,05	58
		$^2/_3$ letale Strophanthindosis in 2 Teildosen mit 60 min Abstand			
120		184	0,03	0,07	54
	15	250 n. 7 min	0,04 n. 2 min	0,06 n. 4 min	74 n. 6 min
180		206	0,02	0,06	70
	20	230 n. 9 min	0,05 n. 2 min	0,06 n. 4 min	64 n. 4 min
240		210	0,02	0,06	66
	25	224 n. 6 min	0,05 n. 2 min	0,06 n. 4 min	64 n. 6 min
Vorperiode		280	0,02	0,05	118
		$^2/_3$ letale Strophanthindosis in 2 Teildosen mit 60 min Abstand			
120		184	0,03	0,06	92
	20	292 n. 5 min	0,04 n. 2 min	0,05 n. 4 min	100 n. 4 min
180		236	0,03	0,05	84
	25	258 n. 7 min	0,05 n. 2 min	0,05 n. 4 min	82 n. 4 min
240		240	0,04	0,05	78
	30	256 n. 5 min	0,06 n. 2 min	0,05 n. 6 min	82 n. 6 min
Vorperiode		268	0,03	0,06	90
		$^2/_3$ letale Strophanthindosis in 2 Teildosen mit 60 min Abstand			
120		204	0,03	0,065	72
	20	242 n. 5 min	0,04 n. 2 min	0,06 n. 4 min	84 n. 4 min
180		208	0,03	0,065	80
	25	236 n. 6 min	0,05 n. 2 min	0,06 n. 4 min	82 n. 6 min

* $^1/_4$ letal nachgespritzt.

4. PQ war nach g-Strophanthin meist etwas verlängert, nach Novocaingaben war die Dauer evtl. etwas verkürzt (parallel mit Frequenzsteigerung).

5. Die Herzwirkungen von 3 und 4 erfolgten innerhalb von 2—3 min, also wahrscheinlich direkt, die Änderungen von Frequenz und Atmung waren erst nach 5—10 min maximal, was vielleicht auf Hemmung eines Reflexmechanismus hinweist.

III. Digitoxin, g-Strophanthin und andere Verbindungen auf die Azetylcholinempfindlichkeit des perfundierten Froschherzens.

(Nach Versuchen von cand. med. Holland-Cunz.)

Eine Sensibilisierung für den Vagusreiz und für Azetylcholin durch Digitalisstoffe am isolierten Froschherzen nachzuweisen ist Hohensee und Lendle[2] sowie früher Schleypen[19] entgegen den Angaben von Gremels nicht gelungen. Zinnitz[20] hatte früher den Potentialgiftcharakter des Azetylcholins bei Injektion in die Abdominalvene des Frosches aus einer verlängerten Wirkungsdauer (Herzstillstand) nach Dekapitierung unter Narkose u. a. nachzuweisen versucht. Man kann aber kritisch die Frage erheben, ob bei diesen Versuchen nicht eine verminderte Blutumlaufgeschwindigkeit durch die genannten Eingriffe eine längere Verweildauer des Azetylcholins im Herzen veranlaßte.

Wir griffen auf das Verfahren des vom Sinus in situ perfundierten Froschherzens zurück, weil man hier eine sofortige Wirkung auf den Sinus selbst erzielt und weil man die Perfusionsgeschwindigkeit konstant erhalten kann. Außerdem kann man an diesem Präparat nach dem Vorgehen von Bülbring[21] neben der Frequenz auch die Leistungsfähigkeit bei verschiedenen Belastungen durch Erhöhung von Zufluß oder arteriellem Widerstand leicht messen. Das Präparat steht nicht wie das Warmblüterherz in situ unter regulatorischen Einflüssen von depressorischen Reflexen und extrakardialen Nerveneinflüssen.

Vorversuche ergaben, daß Injektionen der wirksamen Dosen von Azetylcholin in den venösen Zufluß keine Frequenzsenkung von genügender und gleichmäßiger Dauer und Stärke lieferten, oder daß nur Herzstillstände mit starker Dilatation eintraten, so daß wiederholte derartige Injektionen das Präparat schädigen konnten. Wir entschlossen uns daher, das Herz jeweils mit eben pulsverlangsamenden Konzentrationen der Glykoside, von Azetylcholin oder von entsprechenden Mischungen beider Giftarten zu perfundieren. Kontrollversuche wurden mit Urethan ausgeführt, das wohl direkt und nicht über den Vagus eine Bradykardie erzeugen kann. Über die methodische Anordnung und die vielen einzelnen Ergebnisse wird in der Dissertationsarbeit von Holland-Cunz[22] berichtet.

Die Ergebnisse von 15 Versuchen sind in Tab. 6 kurz zusammengefaßt. Die gewählte Azetylcholingrenzkonzentration (5×10^{-9}) lag an der unteren Grenze der Wirksamkeit. Die Frequenzwerte sanken selten um mehr als 10% verglichen mit den Ausgangswerten, dagegen war

Tabelle 6. *Beeinflussung der Herzfrequenz und Förderleistung unter Azetylcholinperfusion zusammen mit Digitoxin, Strophanthin und Urethan.*

Nr.	Durchströmung		Frequenzsenkung in %	Änderung des min-Volumens in %
	Azetylcholin	Glykosidkonzentration		
4	$5 \cdot 10^{-9}$	—	17	— 6,7
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin 10^{-6}	50	0
5	$5 \cdot 10^{-9}$	—	7,7	— 31
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin $3 \cdot 10^{-7}$	33	— 3
11	$5 \cdot 10^{-9}$	—	20	— 21,5
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin $3 \cdot 10^{-7}$	42	+ 75
20	$5 \cdot 10^{-9}$	—	0	— 18
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin $2{,}5 \cdot 10^{-7}$	20	— 13,5
18	$5 \cdot 10^{-9}$	—	0	— 15
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin $2{,}5 \cdot 10^{-7}$	0	+ 15
12	$5 \cdot 10^{-9}$	—	6	— 8
	$5 \cdot 10^{-9}$	Digitoxin $2{,}5 \cdot 10^{-7}$	3	+ 4
20	10^{-8}	—	10	— 18
	10^{-8}	Digitoxin $2{,}5 \cdot 10^{-7}$	30	— 13,5
2	$5 \cdot 10^{-9}$	—	0	— 61
	$5 \cdot 10^{-9}$	g-Strophanthin $5 \cdot 10^{-7}$	0	— 56
24	$5 \cdot 10^{-9}$	—	4,5	— 43
	$5 \cdot 10^{-9}$	g-Strophanthin $5 \cdot 10^{-7}$	0	— 31,5
3	$5 \cdot 10^{-9}$	—	9,5	— 65,5
	$5 \cdot 10^{-9}$	g-Strophanthin $3 \cdot 10^{-7}$	4,8	— 3
23	$5 \cdot 10^{-9}$	—	12	— 50
	$5 \cdot 10^{-9}$	g-Strophanthin $3 \cdot 10^{-7}$	12	— 35
10	$5 \cdot 10^{-9}$	—	14	
	$5 \cdot 10^{-9}$	Urethan 1 : 400	31	nicht gemessen
	—	Urethan 1 : 400	0	
25	$5 \cdot 10^{-9}$	—	12,5	— 45
	$5 \cdot 10^{-9}$	Urethan 1 : 400	27,5	— 50
	—	Urethan 1 : 400	7	0
32	$5 \cdot 10^{-9}$	—	11,5	— 78
	$5 \cdot 10^{-9}$	Urethan 1 : 1000	25	— 89
	—	Urethan 1 : 1000	3	— 44,5
34	$5 \cdot 10^{-9}$	—	20	— 40
	$5 \cdot 10^{-9}$	Urethan 1 : 1200	36	— 75
	—	Urethan 1 : 1200	20	— 30

die Verminderung des Minutenvolumens doch deutlicher. Urethan verminderte die Frequenz kaum und das Minutenvolumen mäßig. Die Frequenzwerte der Automatie werden also offensichtlich konstanter gehalten, als das Minutenvolumen, das auch sonst ohne extrakardiale Einflüsse stärker variabel und anpassungsfähig ist.

Nach Vorversuchen (vgl. Diss. von Holland-Cunz) vermochte Digitoxin in den gleichen Konzentrationen in 4 von 5 Versuchen die Frequenz um 7—9% herabzusetzen, in 2 von 5 Versuchen aber auch die Förderleistung einzuschränken. Die Kombinationsversuche (vgl.

Tab. 6) ergaben für Strophanthin in keinem von 4 Versuchen eine verstärkte Frequenzverminderung. Die Kombination mit Digitoxin ergab in 5 von 7 Fällen eine etwas stärkere Frequenzsenkung als vorher. Der Unterschied war aber nicht so groß, daß von einer „Sensibilisierung" zu sprechen wäre, denn man muß ja die genannte Eigenwirkung des Digitoxins dabei abrechnen. Beide Glykoside wirkten in den gewählten Konzentrationen noch „therapeutisch", denn sie verbesserten die unter Azetylcholin allein stärker verminderte Förderleistung. Die Kontrollversuche mit Urethan zeigten in 4 Fällen eine geringere Verstärkung der negativ chronotropen und inotropen Azetylcholineffekte. Man könnte also auch hier leicht unrichtigerweise von einer „Sensibilisierung für Vagusreize" sprechen, obwohl es sich wohl nur um eine verminderte Erregungslage der Automatie unter Urethan handelt, die durch Azetylcholin leichter zu hemmen ist. Das wäre aber keine spezifische Vagusbeziehung, ebenso wie die geringere Hemmbarkeit einer durch Kampfer, Adrenalin oder Koffein erregten Herzautomatie nur als „scheinbare Vaguslähmung" gedeutet werden darf.

Nach neuen Erfahrungen von Krayer[23] und Mitarbeiter vermögen Veratrum-Alkaloide und Solanin die frequenzfördernde Wirksamkeit von Adrenalin und Sympathikusreizen aufzuheben (ohne Einfluß auf die inotrope Wirkung). Man könnte nun auch auf den Gedanken kommen, daß eine Digitalisbradykardie vielleicht auf dem gleichen Verhalten zum Sympathikus beruhen mag, da die Glykoside gewisse chemische Beziehungen zu den genannten Stoffen haben. Wir durchströmten in 3 Versuchen das Froschherzpräparat mit Adrenalin 5×10^{-8} und injizierten alle 7—10 min 1 γ g-Strophanthin. Diese Versuche ergaben aber Frequenzverminderungen erst gleichzeitig mit dem Einsetzen der verminderten Förderleistung. 3 Versuche seien kurz in ihren Ergebnissen beigefügt:

Vers. Nr.	Änderungen unter Adrenalin		Strophanthin-gaben	Frequenzsenkung bis zur vollen Insuffiz.
	Frequenz	Förderleistung		
46	+30%	+34	7 γ	—46%
44	+60	+43	5 γ	—48%
45	+31	+31	9 γ	—53%

Erörterung der Ergebnisse.

Unsere Versuche haben für eine Sensibilisierung des Vagus durch Vorbehandlung von Warmblütern oder bei Perfusion des Froschherzens mit Digitalisglykosiden keine Bestätigung erbringen können, selbst in hohen toxischen Dosen. Von Heim und Bänder[5] ist neuerdings die Ansicht vertreten worden, daß dies nur am geschädigten Herzen mit therapeutischen Digitalisdosen nachzuweisen sei. Für diese mögliche

Auffassung ist auf S. 373 eine kritische Deutung gegeben worden. Sie konnten in ihren Versuchen aber selbst nicht die von Gremels erhobenen Befunde bestätigen, welche bisher die anerkannte Stütze für die Annahme einer Digitalissensibilisierung des normalen Vagustonus waren.

Von neuen Veröffentlichungen seien hier noch 2 Arbeiten zur Diskussion gestellt. Luisada und Mautner[24] beobachteten an Kaninchen und Hunden bei Registrierung von Blutdruck, Herzvolumen, EKG und Phonogramm, daß deutlich negative Doryleffekte (0,01—0,05 mg/kg) durch Digitoxin und Strophanthin *antagonistisch* beeinflußt werden. Diese Befunde erhoben sie in Versuchen mit intaktem Vagus und bei Vagusausschaltung und bestätigten sie am isolierten Froschherzen. Auch unter einem Sympathicolyticum waren die Ergebnisse gleichartig, so daß also nicht eine erregende Digitaliswirkung auf den Sympathikus für diesen Antagonismus zum Vaguseffekt verantwortlich ist.

Eine neueste Arbeit von Konzett und Rothlin[25] geht wieder von der Vagussensibilisierung aus und bemühte sich am durchströmten Halsganglion der Katze, in welchem auch eine cholinergische Übertragung in den Synapsen stattfindet, unter Digitalisglykosiden eine Sensibilisierung nachzuweisen. Dies gelang mit relativ hohen Konzentrationen oder injizierten Einzeldosen, auch am denervierten Ganglion und bei gleichzeitiger Eserin-Perfusion. Vielfach folgte der Sensibilisierung eine Lähmung der Ganglien. Es wird daraus geschlossen, daß die Glykoside an den Ganglien selbst sensibilisierend wirken, ohne eine direkte Erregung auszulösen. Vielleicht darf man in diesem Ergebnis eine Parallele sehen zu den Erfahrungen von Heymans[26] und Mitarbeiter, daß die Rezeptoren des Karotissinus durch Strophanthin sensibilisiert werden.

Alle diese Möglichkeiten müßten aber am herzgesunden Menschen oder Tier, ebenso wie am herzinsuffizienten nach therapeutischen Digitalisgaben eine Bradykardie entstehen lassen. In Wirklichkeit gibt es aber am gesunden Organismus nur eine *toxische* Digitalisbradykardie und für diese haben wir in Teil II durch den antagonistischen Novocaineffekt auch die Möglichkeit einer Entstehung auf reflektorischer Basis über Rezeptoren im Herzen oder in Gefäßen wahrscheinlich gemacht.

Zusammenfassung.

Bei elektrokardiographischer Registrierung der herzhemmenden Wirkung intravenös injizierter Azetylcholingaben vor und nach Behandlung verschiedener Tierarten mit Digitoxin und Strophanthin konnte keine Sensibilisierung des Vaguseffektes nachgewiesen werden.

Die toxische Digitalisbradykardie nach hohen Dosen beider Glykoside ließ sich durch intravenöse Novocaininjektionen aufheben, woraus auf eine reflektorische Auslösung dieser Bradykardie von Rezeptoren in Herz oder Gefäßen geschlossen werden mag.

Auch bei Perfusion des Froschherzens in situ vom Sinus her mit Azetylcholinlösungen allein oder in Kombination mit Glykosidlösungen ließ sich keine Verstärkung im Sinne einer Vagussensibilisierung erkennen.

Literatur.

[1] Oldenburg, D., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 243 (1950). — [2] Hohensee u. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 388 (1949). — [3] Danielopolu: C. r. Soc. Biol. Paris **138**, 771 (1944). — [4] Chen u. Geiling: Schweiz. med. Wschr. 1947, S. 25. — [5] Heim u. Baender: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, (1951), S. 456. — [6] Gremels, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **186**, 625 (1937). — [7] Gremels, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 561 (1941). — [8] Gremels, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 629 (1940). — [9] Gollwitzer-Meier: Verh. Dt. Ges. Kreisl.-Forsch. XVI, 5. 6. 1950. — [10] v. Bezold, A., u. L. Hirt: Unters. aus d. physiol. Lab. Würzburg **1**, 95 (1867). — [11] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, 195. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 347 (1939). — Arch. Kreislaufforschg. **7**, 250 (1940). — [12] Eichholtz, F., A. Fleckenstein u. R. Muschawek: Klin. Wschr. **1949**, 71. — [13] Fleckenstein, A., R. Muschawek u. F. Bohlinger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 132 (1950). — [14] Krayer, O.: Lect. Unitar. Service Med. Miss. 1948, Berlin. — [15] Zipf, H. F., u. H. Ehrlicher: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 529 (1951). — [16] Straub, W.: Klin. Wschr. **1922**, 1638. — [17] Oldenburg, D.: Diss. Göttingen 1950. — [18] Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 82 (1951). — [19] Schleypen, W.: Diss. Münster 1943. — [20] Zinnitz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 697 (1938). — [21] Bülbring: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 257 (1930). — [22] Holland-Cunz: Diss. Göttingen 1951. — [23] Krayer, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 405 (1950). — [24] Luisada u. Mautner: Acta Pharm. et Tox. (Kop.), Bd. **2**, 275 (1946). — [25] Konzett, H., u. E. Rothlin: Helvet. Phys. Acta **8**, 64 (1950). — [26] Heymans, C, Bonckaert ü. Regniers: Arch. int. pharmakol. **44**, 31, 1932.

Prof. Dr. L. Lendle, Göttingen, Geiststr. 9, Pharmakol. Inst.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 387—391 (1951).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. Ludwig Heilmeyer).

Einwirkung von TBI (Conteben) auf die Eiweißhyperergie der Ratte.

Von
Ludwig Heilmeyer, Joachim Frey und Richard Fischer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Februar 1951.)

Nachdem von Heilmeyer[1, 2, 3] der Einfluß von TBI (Conteben Bayer) auf die Entzündung, speziell die rheumatische, und damit auf die Zusammensetzung der Plasmakolloide einerseits und auf der anderen Seite die Parallelität der Wirkungen von TBI und adrenotropem Hormon (ACTH) sowie Cortison aufgedeckt worden war, erwies sich die Suche nach einem geeigneten Prüfsubstrat zur Erweiterung des Einblicks in den Wirkungsmechanismus des Thiosemicarbazonderivats TBI als bedeutungsvoll. Es wurde hierfür günstig befunden, sich der angeborenen Hyperergie der Ratte auf Einverleibung von Hühnereiereiweiß zu bedienen, wie sie auch von Selye[4] und anderen benutzt[5] und modifiziert (F. Gross[6]) wurde.

Die Formalinentzündung der Rattenpfote, als eine Art von Gewebsalteration von Selye[7] eingeführt und für die Herausarbeitung der von ihm benannten „Alarm-Reaktion" und des „Allgemeinen Anpassungs-Syndroms" (General Adaptation Syndrom, G-A-S) als brauchbar von ihm und anderen Autoren vielfach benutzt, zeigte sich für unsere Versuche mit TBI nicht anwendbar. Mehrere Versuchsserien (an insgesamt 77 ausgewachsenen Ratten) ergaben bei jeweils getrennt vorgenommener Auswertung durch die Verfasser, daß Stärke und Ausbreitung der Gewebsentzündung am Hinterfuß nach subpalmarer Injektion von Formalin (0,1 ml 1%ige Formalinlösung am 1. und 3. Tag, 0,1 ml 2%ige Formalinlösung am 4. Tag) sich nicht signifikant unterschiedlich von den Kontrollen ausbildeten, wenn die Tiere TBI oral oder subkutan erhielten. Dabei war Dauer und Dosis der Semikarbazonverabfolgung gleichgültig, d. h. eine TBI-Gabe von täglich 50 mg über 3 Wochen vor Anwendung der Formalinentzündung ließ ebenso wenig Unterschiede im Sinne einer Entzündungsbeeinflussung erkennen wie kleinere und kürzer angewandte Gaben bis schließlich zu 25 mg TBI zur Zeit der Entzündungserzeugung. Dieses negative Resultat deckt sich mit den von Gross[6] erhobenen Befunden.

Die Ratten-Eiweißhyperergie zeigte sich dagegen brauchbar. Mit diesem Modell der Ovalbuminhyperergie haben Halpern und Briot[8] an etwa 600 Ratten gearbeitet und dabei eine Reaktionslosigkeit gegen Eiereiweiß von etwa 14% der Tiere gefunden; diese Zahl übersteigt etwas die unsrige (etwa 10%). Bei 1,5 ml nativem Ovalbumin intraperitoneal pro 100 g Ratte stellten die Verfasser Ödem, Hämokonzentration und Temperaturabfall fest, Reaktionen, die sich nach Adrenalektomie verstärkten. Synthetische Antihistaminica heben diese Erscheinungen

bei normalen wie adrenalektomierten Tieren auf oder bremsen sie (außer den Temperaturabfall); Adrenalin (auch von Grandjean[9] festgestellt) und oxydierte Adrenalinderivate verhalten sich gleich, verhindern aber auch die hypotherme Reaktion.

Methode: Nach intraperitonealer Injektion von 0,5 ml nativem Hühnereiweiß (Ovalbumin) bildet sich innerhalb 1 Std eine sehr deutliche Hautrötung und -schwellung (ähnlich einer generalisierten Urticaria) aus, die besonders markant an den wenig behaarten Teilen sichtbar ist (Pfoten, Schnauze, Genitalorgane) und ihren Höhepunkt 2—2½ Std p. i. erreicht, um dann etwas langsamer wieder zu verschwinden (etwa 6 Std p. i.). Nach dem Vorgehen von Grandjean[9] teilten wir den Schwellungsgrad der Haut in Stadien ein (Stadium 0 bis +++), addierten alle Einzelwerte einer Versuchsgruppe zu den bestimmten Zeiten und reduzierten die gefundene Zahl auf die Tierzahl 10. Dadurch war ein Schwellungsgrad von 0 bis maximal 30 gegeben und ein Vergleich der einzelnen Serien möglich. In einer weiteren Serie wurde eine objektive Feststellung des Schwellungsgrads durch Wägung der nach bestimmter Zeit amputierten Extremitäten herangezogen, was aber einen Verzicht auf die Beobachtung der Rückbildung des Ödems bedeutet (Halpern und Briot[8]).

Den Versuchen dienten ausschließlich junge männliche weiße Ratten von durchschnittlichem Gewicht von 50—60 g; die Benutzung von jugendlichen Ratten war durch den Vergleich mit adrenalektomierten Tieren bedingt (für die liebenswürdige Unterweisung im Operationsverfahren danken wir Herrn Dr. Gross). Bei Verwendung von nur männlichen Tieren ergab sich eine wesentlich geringere Streubreite im Ausfall der Reaktion, insbesondere mit TBI.

Die Versuche wurden von Mai 1950 bis Februar 1951 ausgeführt. Die für diese Arbeit vorliegende Tierzahl war: 78 Kontrollen, 66 TBI-Tiere, 26 Kontrollen mit Adrenalektomie und 16 adrenalektomierte TBI-Ratten. Für die Wägungsversuche wurden außerdem 15 Kontrollen und 30 TBI-Tiere herangezogen.

Ergebnisse.

1. a) Schätzung des Schwellungsgrades (0 bis +++, Maximalwert 30, 66 Tiere). Nach 2mal 50 mg TBI oral (1. Gabe 12 Std, 2. Gabe 1 Std vor Eiweißinjektion) ist die Ausbildung der Eiweißhyperergie an der Haut stark reduziert: während die Kontrollen einen maximalen Schwellungsgrad von 20 aufweisen, bleiben die TBI-Tiere mit einem solchen von maximal etwas über 3 stark zurück, indem die Hautschwellung erst nach 1 Std deutlich wird und nach 3½ Std bereits wieder fast völlig geschwunden ist (Abb. 1); der Unterschied ist statistisch signifikant. Ähnliche Ergebnisse hatte Grandjean[9]. Die Versuchstiere ließen durch die TBI-Gaben in ihrem Verhalten und in ihrer Vitalität keine auffälligen Veränderungen erkennen; jedoch wurden gelegentliche Pleuratranssudate und Lungeninfiltrationen gesehen.

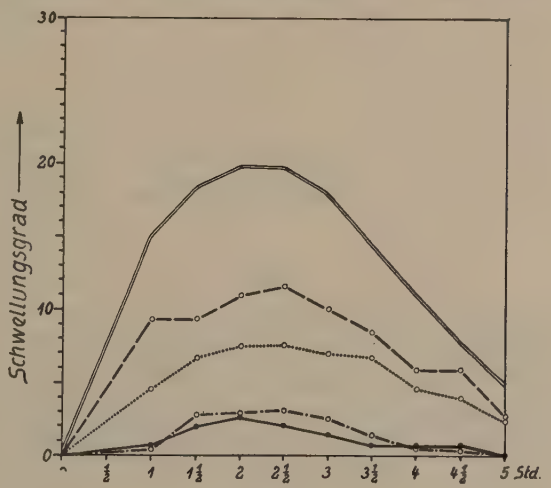
b) Wägung der Ödeme. Die nachfolgende Tabelle ergibt als objektives Maß[8] der Hyperergiehemmung durch TBI die Gewichte der abgetrennten Pfoten in auf das Durchschnittsgewicht reduzierter und in durchschnittlicher Berechnung für eine Extremität wieder. Die Amputation, möglichst genau in gleicher Höhe ausgeführt, erfolgte 2 Std (Höhepunkt der Schwellung) nach intraperitonealer Ovalbumininjektion.

	Durchschnittsgewichte		
	pro Tier g	pro Vorderpfote mg	pro Hinterpfote mg
15 Kontrollen ohne TBI .	54	940 ($\varepsilon = \pm 29$)	940 ($\varepsilon = \pm 19$)
30 TBI-Ratten.	54	820 ($\varepsilon = \pm 17$)	790 ($\varepsilon = \pm 26$)

Auch hieraus läßt sich die ödemhemmende Wirkung des TBI gut erkennen; die signifikante Differenz ist in diesem Versuch ebenfalls statistisch gesichert.

$$\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}} = 3{,}75 \text{ für Vorderbeine und } 4{,}69 \text{ für Hinterbeine.}$$

Dieser Befund deckt sich mit dem von Eichholtz[11], der das TBI als „eines der stärksten kapillardichtenden Mittel" bezeichnet.



0,5 ml Eiereiweiß i. p. (78 T);
0,5 ml Eiereiweiß i. p. + 2 × 50 mg TBI oral (66 T);
0,5 ml Eiereiweiß i. p. + 2 × 50 mg TBI oral + 0,5 mg ACTH s. c. (8 T);
0,5 ml Eiereiweiß i. p. + 2 × 50 mg TBI oral + 5 mg Cortison s. c. (6 T);
0,5 ml Eiereiweiß i. p. + 2 × 50 mg TBI oral + 5 mg Cortison s. c. + 0,5 mg ACTH s. c. (9 T).

Abb. 1. Entzündungshemmungen durch TBI + ACTH und/oder Cortison: stärkste Wirkung durch ACTH + TBI, gegenregulatorische Entzündungsverstärkung bei Cortison + TBI (vermutlich DOC-Ausschüttung aus NNR).

2. Es ist nun sehr interessant, die gleichzeitige Einwirkung des adrenotropen Hormons des Hypophysenvorderlappens (ACTH) und eines Nebennierenrindenhormons (17-hydroxy-11-dehydro-corticosteron, Compound E, Cortison nach Kendall, Hench, Slocumb and Polley[13])

in ihren entzündungshemmenden Auswirkungen (z. B. Selye[7, 13]) mit TBI zu vergleichen. Bei erhaltenen Nebennieren bedeutet die simultane Anwendung von TBI + ACTH (Farbwerke Hoechst) eine weitere — allerdings geringe — Depression der Hyperergie (Abb. 1). Cortison (Ciba) dagegen, zum TBI gegeben, läßt eine weniger ausgeprägte Verringerung der Eiweißhyperergie auftreten als TBI allein, obwohl es ebenfalls entzündungshemmend wirkt; seine Entzündungsbeeinflussung entspricht in diesen Versuchen etwa derjenigen seiner alleinigen Anwendung.

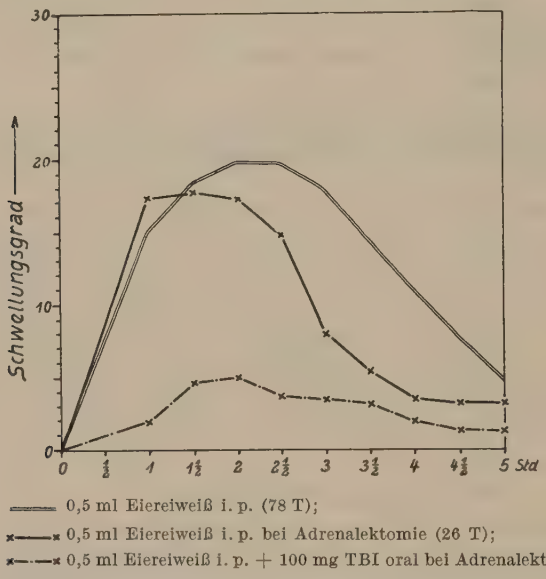


Abb. 2. Gleichstarke Herabsetzung der Eiweißhyperergie bei adrenalektomierten Ratten wie bei Tieren mit erhaltenen NN: extra-adrenaler Angriffspunkt des TBI (Hypophyse, Gewebe).

(s. Ziff. 3 und spätere Mitt.). Dieser Befund gleicht demjenigen von Selye[8], wonach bei Anwendung von Cortison offensichtlich eine gegenregulatorische Angabe des entzündungssteigernden 11-Desoxy-corticosteron (DOC)[10] eintritt. — Nach diesen Versuchen hat es den Anschein, als wenn der Schwerpunkt des Angriffs von TBI nicht vornehmlich in der Nebenniere zu suchen ist.

3. Bei adrenalektomierten Ratten (10 Tage post op.) ist die Eiweißhyperergie anfänglich beinahe so stark ausgeprägt wie bei den Kontrollen, jedoch zeitlich kürzer gestaltet (Abb. 2). Diese Beobachtung darf wiederum als Ausdruck der Einwirkung von DOC der NNR bei der gewöhnlichen Entzündung oder entsprechenden Gewebsreaktionen aufgefaßt werden: an der Ausprägung einer üblichen entzündlichen Gewebs-

reaktion ist eine DOC-Ausschüttung aus der NNR mitbeteiligt. Es wurden allerdings auch gegenteilige Beobachtungen gemacht (Halpern und Briot[8]), indem eine Verstärkung der Ödemreaktion erwachsener Ratten nach NN-Exstirpation auftrat. — Gibt man nun adrenalektomierten Tieren TBI, so ist der Schwellungsgrad der Eiweißhyperergie kaum stärker als bei den Kontrollen mit erhaltenen Nebennieren (vgl. Abb. 2 mit Abb. 1). Dieser Befund macht es sehr wahrscheinlich, daß entgegen der ersten Annahme[3] die Nebennierenrinde an der entzündungshemmenden Wirkung des TBI nicht oder nur gering mitbeteiligt sein kann, sondern daß das übergeordnete Zentrum (Hypophyse) oder das nachfolgende Substrat (Gewebe) in der Reaktionskette die Hyperergiedepression durch TBI bewirkt.

Zusammenfassung.

Mittels der Eiweißhyperergie an jugendlichen männlichen Ratten wird gezeigt, daß

1. TBI (Conteben Bayer) einen entzündungshemmenden Einfluß ausübt;

2. diese antiallergische Wirkung durch Gegenregulation (DOC-Ausschüttung durch die Nebennierenrinde) gestört werden kann, und daß

3. der Angriffspunkt des TBI nicht in der Nebennierenrinde allein zu suchen ist.

Literatur.

[1] Heilmeyer: Ars Medici **1948**, 295. — [2] Heilmeyer: Klin. Wschr. **1948**, 649. — [3] Heilmeyer: Klin. Wschr. **1950**, 254. — [4] Selye: Endocrinology **21**, 169 (1937). — [5] Léger, Masson a. Prado: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **64**, 366 (1947). — [6] Gross: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 421 (1950); mündliche Mitteilungen. — [7] Selye: Stress, Acta, Inc., Medical Publ., Montreal, Canada 1950. — [8] Halpern, e. Briot: Arch. int. Pharmacodyn. **82**, 247 (1950). — [9] Grandjean: mündliche Mitteilungen. — [10] Selye, Sylvester, Hall a. Leblond: J. Amer. vet. med. Assoc. **124**, 201 (1944). — [11] Eichholtz: Klin. Wschr. **1950**, 761. — [12] Kendall, Hench, Slocumb a. Polley: Proc. Staff Med. Mayo Clin. **24**, 181 (1949). — [13] Selye: Brit. med. J. **1949**, 4637.

Prof. Dr. L. Heilmeyer, Freiburg/Br., Hugstetterstr. 55.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 392—394 (1951).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. Ludwig Heilmeyer).

Über die Wirkung verschiedener Antihistaminica und von Novocain auf die Eiweißhyperergie der Ratte.

Von
Richard Fischer und Joachim Frey.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 20. März 1951.)

Die zunehmende Bedeutung von Stoffen, die hyperergische Reaktionen im Sinne einer Dämpfung bzw. Aufhebung beeinflussen können, geht neben der Zahl der Veröffentlichungen auch aus derjenigen der Präparate verschiedener chemischer Zusammensetzung hervor (es sei nur auf die letzten Monographien von Rost[1], R. Abderhalden[2] und Haas[2a] sowie die Arbeiten von R. Meier[3], Brett[4] und Kimmig[5] verwiesen).

Mit dem gleichen Verfahren (Selye[6]) wie früher[7] wurde bei jugendlichen männlichen Ratten eine Hyperergie durch Ovalbumin erzeugt unter gleichzeitiger Verabfolgung von Stoffen, die als Antihistaminica bezeichnet werden.

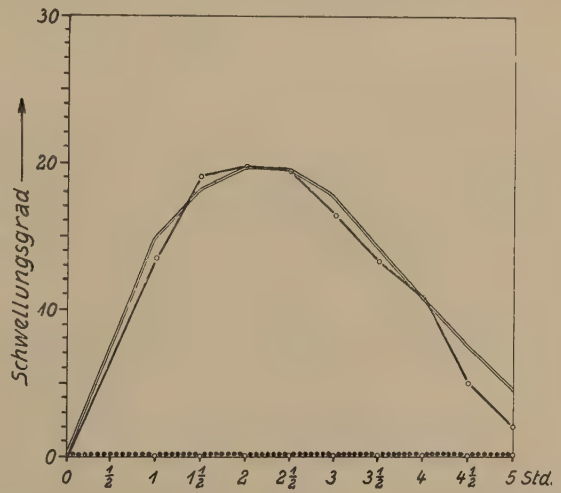
Die angewandten Substanzen waren: das von uns[8] früher schon klinisch und experimentell geprüfte 2-(N-phenyl-N-benzylaminomethyl)-imidazolin (Antistin Ciba) in einer Dosierung von 0,1—0,2 g/kg Ratte; p-aminosalicylsaures Salz des 1-phenyl-1-pyridyl(2-)-3-dimethylaminopropan (Avil Hoechst) mit 0,1 g/kg; saures Tartrat des 2-methyl-9-phenyl-2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-pyridin (Tephorin Hoffmann-La Roche) mit 0,5 g/kg; Pyrrolidyl-aethyl-phenyl-benzylamin (Luvistin Boehringer) mit 0,1—0,2 g/kg; N-phenyl-N-benzyl-4-amino-1-methylpiperidinglukonat (Soventol Knoll) mit 0,2 g/kg Ratte.

Neben 80 Kontrollen wurden 53 Ratten für die vorliegenden Versuche benutzt.

Nach Leger und Masson[9] und Clark und MacKay[10] wirken Antihistaminstoffe ebenso hemmend, wie sie nach Halpern und Briot[11] die unter Ovalbuminwirkung als Folge der Ödembildung auftretende Hämokonzentration und auch das Ödem fast vollständig verhindern, während der beobachtete Temperaturabfall bestehen bleibt. — Mit dem Effekt der genannten Antihistaminica haben wir denjenigen von Novocain verglichen, das zur Bekämpfung von Allergosen verschiedener Ätiologie gebraucht wird. Nach Fleckenstein und Hardt[12] ist der Wirkungsmechanismus der Antihistaminkörper und Lokalanästhetica (auch der atropinartigen Stoffe) ein ähnlicher und besteht in einer Permeabilitätsänderung, indem eine Kaliumabgabe aus der Zelle blockiert werde. Eichholtz[13] stellte auf Grund seiner Versuche (10 mg Novocain s.c. pro 100 g Ratte) eine „beträchtlich verminderte Kapillarbrüchigkeit über viele Stunden" — ähnlich wie nach Desoxycorticosteronazetat — fest.

In unseren Versuchen geschah die Anwendung des Novocain bei 20 Tieren intravenös (in einigen Versuchen auch subkutan) in einer Dosierung von 0,1 ml einer 1%igen Lösung pro Tier (50—60 g schwer), was einer Dosis von 20 mg/kg Tier oder von etwa 100 ml der gleichen Lösung für den Menschen entspricht (in der Klinik werden 1—10 ml 1%iges Novocain i.v. benutzt).

Die Abbildung verdeutlicht, daß die hier angewandten Antihistaminica eine Entstehung der angeborenen hyperergischen Reaktion der Ratte auf Eiereiweiß vollständig zu verhindern in der Lage sind, während intravenöse Injektionen von Novocain bei jugendlichen Ratten keine Änderungen dieser Modellreaktion gegenüber Kontrollen zu Wege



0,5 ml Eiereiweiß i.p. (80 T).
0,5 ml Eiereiweiß i.p. + verschiedene Antihistaminica.
0,5 ml Eiereiweiß i.p. + 0,001 g Novocain i.v. (20 T).

Abb. 1. Aufhebung hyperergischer Reaktionen an der Rattenhaut durch verschiedene „Antihistaminica"; kein Einfluß auf die Eiweißhyperergie durch Novocain.

bringen. Diese Feststellung scheint uns auch im Hinblick der Wirkungsweise der antiallergischen Substanzen und auf eine Anwendung der Lokalanästhetica in der Klinik wichtig; allerdings ist die hier verwandte Tierspezies zu berücksichtigen, denn Ratten besitzen z. B. nur recht wenig Histaminase.

Fügt man den Antihistaminica Desoxycorticosteron (Percorten hydrosolubile Ciba) in einer Dosis von 20 mg/kg i.v. hinzu, so erscheint die hyperergische Reaktion nur in einzelnen Fällen gering (vgl. spätere Mitt. und Selye[14]).

Literatur.

[1] Rost: Allergie und Praxis. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950. — [2] Abderhalden: Grundriß der Allergie. Basel: Schwabe 1950. — [2a] Haas: Histamin und Antihistamine. Aulendorf: 1951. — [3] Meier: in

Yonkman, Bovet, Code, Craver, Dale, Dragstedt, Feinberg, Fell, Keating, Leavitt, Loew, Mayer, Meier, Ratner, Rocha e Silva, Waters and Wells: Ann. New. York Sci. **50**, 1013 (1950). — [4] Brett: Dtsch. med. Rdsch. **1948**, 209. — [5] Kimmig: Dtsch. med. Wschr. **1947**, 598. — [6] Selye: Endocrinology **21**, 169 (1937). — [7] Heilmeyer, Frey u. Fischer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D.) **213**, 387 (1951). — [8] Frey u. Walterspiel: Med. Klin. **1948**, 9/10. — [9] Leger u. Masson: Ann. Allergy **6**, 131 (1946). — [10] Clark u. MacKay: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **71**, 86 (1949). — [11] Halpern u. Briot: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 947 (1950). — [12] Fleckenstein u. Hardt: Klin. Wschr. **1949**, 360. — [13] Eichholtz: Klin. Wschr. **1950**, 761. — [14] Selye: Canad. med. Assoc. J. **61**, 553 (1949).

Prof. Dr. Joachim Frey, Freiburg/Br., Lugostr. 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 395—401 (1951).

Aus dem Max Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. B. Rajewsky).

Grenzschichten animalischer Zellen im Elektronenmikroskop *.

Von
O. Hug und W. Lippert.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. März 1951.)

Elektronenoptische Untersuchungen haben bereits an verschiedenen Zellen, vor allem an den roten Blutkörperchen und an Zellbestandteilen, wie den Kernen oder den Mitochondrien, membranartige Hüllen nachgewiesen, die meist als Äquivalente natürlicher Membranen aufgefaßt werden.

Vergleichende Studien mit dem Phasenkontrastverfahren und dem Elektronenmikroskop über das Verhalten verschiedener zellulärer Elemente unter chemischen und mechanischen Einwirkungen sollen zeigen, daß bei der Deutung solcher Membranbilder eine gewisse Vorsicht am Platze ist.

Protoplasmatische Substanz hat die Eigenschaft, in hypotonischen Lösungen unter Aufnahme von Wasser und Elektrolyten zu schwellen und sich schließlich in Form von Tropfen und Bläschen zu zerteilen. Dabei diffundieren lösliche Bestandteile nach außen, unlösliche schlagen sich in Abhängigkeit von den physiko-chemischen Bedingungen im Innern und im Suspensionsmittel an den äußeren Grenzschichten nieder: sie bilden eine Niederschlagmembran. Im Phasenkontrastmikroskop ist zu sehen, wie schließlich scharf begrenzte, optisch leere oder nahezu leere Bläschen entstehen. Sichtbare körnige Plasmabestandteile — seien sie bereits als natürliche Gebilde vorhanden, oder seien sie erst während dieses Vorganges ausgeflockt — geraten mit zunehmender Verdünnung des Plasmas unter die Wirkung der Brownschen Molekularbewegung, wandern in die Grenzschicht und können aus dieser frei nach außen treten. Gleichzeitig unterliegen sie, wenigstens zum Teil, ebenfalls dem Prozeß der bläschenförmigen Schwellung wie das optisch homogene Plasma. Durch Trocknung oder Zusatz von Fixierungsmitteln kann dieser Vorgang zu beliebigen Zeitpunkten unterbrochen und jede seiner

* Herrn Professor Dr. R. Rössle zum 75. Geburtstag in Verehrung gewidmet von seinem Schüler O. H.

Phasen elektronenoptisch dargestellt werden. Die anfangs meist undurchstrahlbaren Plasmateile zeigen in den verschiedenen Stadien der Plasmolyse eine zunehmend aufgelockerte Innenstruktur und stellen sich schließlich als Bläschen mit allseits geschlossener, membranartiger Hülle dar, die je nach dem verwandten Fixierungsmittel mehr oder weniger kontrastreich ist. Aus einer größeren Zahl von Beobachtungen dieses im Prinzip gleichen, in den Einzelheiten variierenden Vorgangs geben wir einige Beispiele*.

Das elektronenoptische Bild der Thrombozyten und ihres Gestaltwandels unter physiologischen und experimentellen Bedingungen ist seit der grundlegenden Arbeit von Wolpers und Ruska[12] bekannt. Nach schwacher Osmiumfixierung und anschließender Behandlung mit destilliertem Wasser konnten diese Autoren „eine doppelseitig scharf begrenzte Membran, wie sie sich im Übermikroskop bei roten Blutkörperchen nachweisen läßt, nicht feststellen." Arbeitet man jedoch eine Thrombozytensuspension genau so auf wie Blut zur Darstellung hämolysierter Erythrozyten, so zeigt das Hyalomer eine faltige Membran wie diese, aber auch Tröpfchen des zerfallenen Hyalomers haben die gleiche Begrenzung (Abb. 1a, 1b). Da das Hyalomer bis über Erythrozytengröße anschwellen kann, ist es oft nur möglich, die bläschenförmigen Gebilde zu identifizieren, wenn sie noch Reste des Granulomers enthalten, dessen Körnchen zum Teil aus dem Plasma austreten.

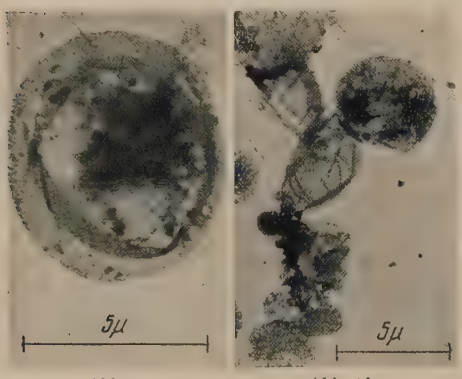


Abb. 1a. Abb. 1b.

Abb. 1a. Thrombozyt aus Zitratblut in dest. Wasser bis zu Erythrozytengröße aufgeschwollen. El.-opt. Vergr. 3000fach.

Abb. 1b. Thrombozyten in tropfigem Zerfall nach längerer aqua-dest.-Einwirkung. El.-opt. Vergr. 1600fach.

Sämtliche Objekte wurden nach Vorbehandlung durch Zusatz von 0,5 cm³ 1%iger Osmiumtetroxydlösung zu 10 cm³ der Suspension fixiert. Nach mehrfachem Waschen und Zentrifugieren wurde ein Tropfen der Suspension auf den mit Zaponlackfolie bespannten Objektträger aufgetrocknet.

Im allgemeinen erscheint zwar die aus Thrombozytenplasma entstandene Niederschlagsmembran lockerer und grobporiger als der Erythrozytenschatten, jedoch sind die Unterschiede dieser Feinstruktur recht fließend. Auf Abb. 1b finden sich Bläschen verschiedenster Art, die alle aus dem zerfallenden Thrombozyten hervorgegangen sind. Es ist naheliegend die scharf konturierten, stark gefalteten Bläschen als die natürliche Hülle des Thrombozyten anzusehen, aus der

* Z. T. demonstriert auf der 2. Jahrestagung der Deutschen Ges. f. Elektronenmikroskopie, Bad Soden, 1950.

beim Zerfall das Innenplasma ausgetreten ist, das sich in lockeren, unscharf begrenzten Bläschen und Tröpfchen niedergeschlagen hat. Gegen diese Vorstellung spricht jedoch, daß wir in den verschiedenen Präparationen alle Übergänge im Aussehen der Bläschen finden und daß bei der Beobachtung im Phasenkontrastmikroskop niemals das Austreten des Zellinnern aus einer dann als leere Hülse zurückbleibenden Membran beobachtet wird.

Ähnlich verhalten sich die verschiedensten natürlicherweise isolierten Körperzellen, wie Leukozyten oder auch frei in der Bauchhöhle schwimmende Zellen des Mäuseascitestumors. Auch ihr Zytoplasma schwillt in destilliertem Wasser kugelig auf (Abb. 2a). In Abb. 2b wird gleichzeitig an der Stelle einer durchstrahlbaren Kernvakuole die gefaltete Hüllschicht des Kernes sichtbar, der selber ebenfalls mächtig anschwellen kann.

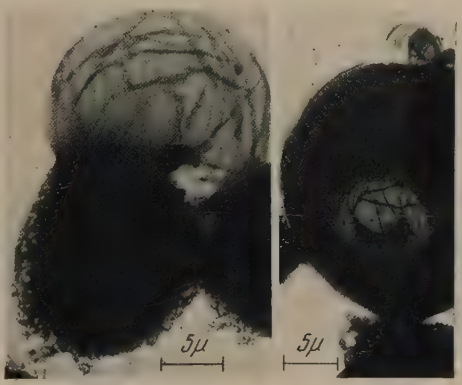


Abb. 2a. Abb. 2b.

Abb. 2a, b. Ascitestumorzellen der Maus, 5 min in dest. Wasser behandelt. El.-opt. Vergr. 1600fach.

Aber auch aus dem natürlichen Gewebsverband künstlich herausgelöste Zellen, wie z. B. Leberzellen, unterliegen den gleichen Veränderungen. Interesse verdient bei allen diesen Zellen das Verhalten von bestimmten geformten Protoplasmabestandteilen, wie den Mitochondrien. Was im üblichen Lichtmikroskop nur als feine Plasmagranulierung erscheint, zeigt sich im Phasenkontrast als Bestand feiner Stäbchen, Körnchen und Körnchenketten. Während der Plasmolyse geraten diese in lebhafte Bewegung, schwellen blasig an und können zum Teil aus dem Zellraum austreten. Die Plasmagrenzschicht, durch die sie hindurchgewandert sind, und sie selbst erscheinen im Elektronenmikroskop als geschlossene Hüllen (Abb. 3).

Dieser künstlich erzeugte Vorgang der Plasmolyse hat physiologische Bedeutung bei einem weiteren Objekt, das wir gemeinsam mit H. Fischer (Chemisch-physiologisches Institut der Universität Frankfurt/M.) untersuchten. Wenn Fischspermien, wie beim natürlichen Befruchtungsvorgang, mit Wasser vermischt werden, tritt nach einer kurzfristigen Phase lebhafter Bewegung eine blasige Anschwellung der vorher unsichtbaren Protoplasmaschicht um Kopf und Schwanz auf und unter tropfiger Zerteilung löst sich das plasmatische Material mit dem Schwanzteil vom Spermienkopf, der selbst, im Gegensatz zu anderen Zellkernen, in Wasser nicht schwillt. Sowohl der Protoplasmaleib im ganzen, wie seine zerfallenen Teilchen bilden sich als faltige Hüllen ab (Abb. 4).

Die stärkste Beachtung haben bisher die elektronenoptischen Darstellungen einer Membran am roten Blutkörperchen gefunden. Man sieht im Bilde dieser „Ballonhülle" den unmittelbaren Beweis dafür, daß auch der lebende Erythrozyt von einer gegen den Hämoglobinkern mehr oder weniger scharf abgesetzten Membran umgeben ist. Damit scheint die alte Diskussion über die Erythrozytenstruktur entschieden zu sein. Zunächst scheint auch die Tatsache, daß die roten Blutkörperchen in hypotonischen Lösungen eine größere Stabilität zeigen, als die anderen plasmatischen Gebilde, am besten erklärt durch die Annahme einer solchen stabilen Haut. Andere Beobachtungen sind jedoch damit nicht ohne weiteres vereinbar.

Wenn man Nativblut kurzfristig auf 50° oder mehr erhitzt, so lösen sich von der Oberfläche feine Fädchen und Kügelchen ab, die Jung[3–5] zunächst für hämoglobinhaltige Lipoidabschmelzungen hielt. Darüber

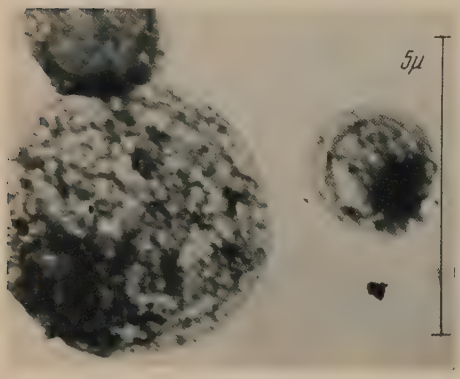


Abb. 3.

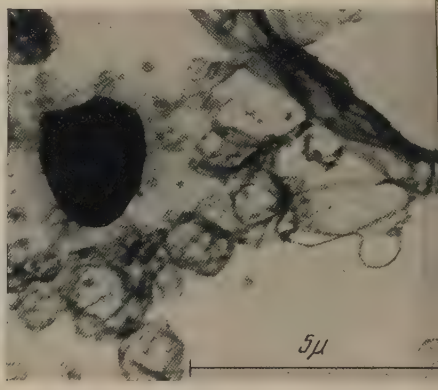


Abb. 4.

Abb. 3. Lebergewebe des Meerschweinchens, homogenisiert, 5 min in dest. Wasser suspendiert; blasig aufgetriebene Zytoplasmabestandteile hervorgegangen aus granulären Körperchen. El.-opt. Vergr. 4800fach.

Abb. 4. Spermien der Regenbogenforelle, 5 min mit Wasser vermischt. El.-opt. Vergr. 6800fach.

hinaus aber ist bereits im Lichtmikroskop zu sehen, wie sich der Erythrozytenleib selbst verzieht, ausstülpt, zerschnürt und wie schließlich eine Art Mikroerythrozyten bis herab zur Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit entstehen[11]. Lindemann[7, 8] und inzwischen auch wieder Jung[6] haben dieses Verhalten der Erythrozyten bei Erwärmung und als Wärmeeffekt bei Beschallung konzentrierter Erythrozytensuspensionen im Übermikroskop untersucht. In ähnlichen Untersuchungen haben wir das erhitzte Blut anschließend der osmotischen Hämolyse ausgesetzt und fanden, daß diese abgeschnürten Partikelchen eine allseits geschlossene Membran haben mit der gleichen durch Hitze veränderten Feinstruktur wie bei den erhaltenen Erythrozyten (Abb. 5a, 5b).

Eine Fragmentation der Erythrocyten läßt sich auch durch mechanische Bearbeitung erzielen. Wenn man Blut im Mörser oder Gewebehomogenisator behandelt, so finden sich neben noch intakten Zellen und

schwer definierbaren Trümmern kleine, allseits geschlossene, teil hämoglobinhaltige, teils hämolysierte Teilchen. An einzelnen ist das Hervorquellen wolkiger Substanz zu sehen, die selbst zur Membranbildung neigt (Abb. 6a). Die Zerteilung der Erythrocyten im Ultraschallfeld führen

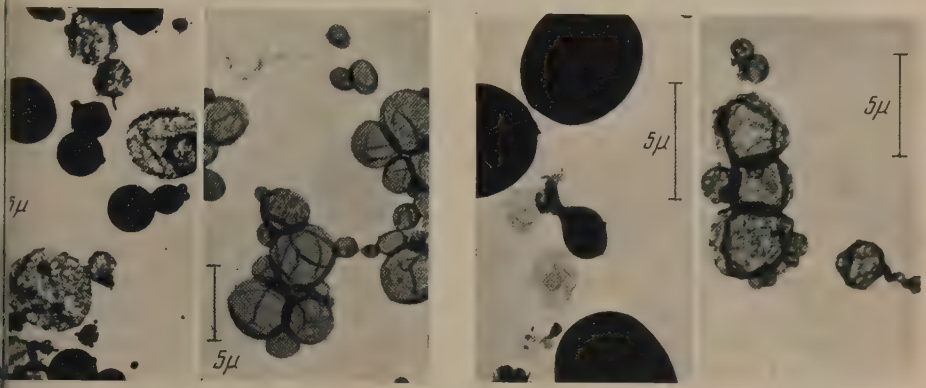


Abb. 5a. Abb. 5b. Abb. 6a. Abb. 6b.

Abb. 5a. Zitratblut, 1 min auf 60° erhitzt. El.-opt. Vergr. 1870fach.
Abb. 5b. Dasselbe mit anschließender Hämolyse in dest. Wasser. El.-opt. Vergr. 1870fach.
Abb. 6a. Zitratblut, im Gewebshomogenisator 3 min behandelt. El.-opt. Vergr. 3000fach.
Abb. 6b. Zitratblut, 5 min beschallt (1000 kHz, 2,5 Watt/cm²) bei 39° C Ausgangstemperatur und 42° C Endtemperatur; anschließend mit dest. Wasser hämolysiert. El.-opt. Vergr. 2680fach.

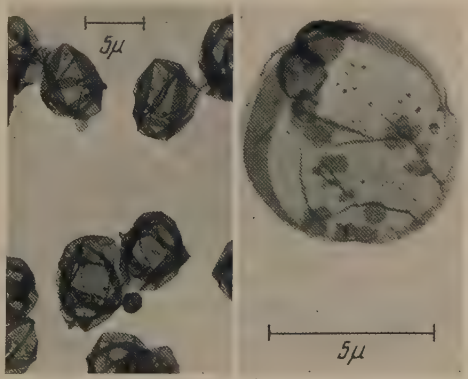


Abb. 7a. Abb. 7b.

Abb. 7a. Zitratblut, mit dest. Wasser hämolysiert. El.-opt. Vergr. 1600fach.
Abb. 7b. Retikulozyt von einem Fall toxischer Anämie, in dest. Wasser hämolysiert. El.-opt. Vergr. 4400fach.

wir trotz dieser Möglichkeit mechanischer Alteration auf die selektive Teilchenerwärmung bei Beschallung inhomogener Medien zurück (Abb. 6b).

Auch bei der normalen Aufarbeitung von Blut treten gelegentlich kleine Bläschen auf, deren Herkunft bisher noch nicht eindeutig geklärt werden konnte. Eine gewisse Wahrscheinlichkeit hat die Annahme einer Abschnürung von Erythrozyten (Abb. 7a).

Einen weiteren Hinweis auf den Charakter der Erythrozytenhüllschicht geben die Untersuchungen an Retikulozyten, die wir zusammen mit P. Moser (II. Med. Klinik der Universität Frankfurt/M.) durchführten und die in einer zweiten Veröffentlichung ausführlicher dargestellt werden[2]. Abb. 7b zeigt, daß die Membran eines hämolysierten Retikulozyten mit Bläschen unterschiedlicher Größe besetzt ist, die selbst aus einer faltigen Membran bestehen. Das gleiche Bild haben Bernhard, Braunsteiner und Mangini[1] und inzwischen Nauck, Peters und Wigand[9, 10] beschrieben und die Bläschen mit der Substantia granulofilamentosa in Zusammenhang gebracht. Wir konnten die Entwicklung der Bläschen aus dieser Substanz unmittelbar im Phasenkontrastmikroskop beobachten und die jeweiligen Stufen der Umwandlung elektronenoptisch festhalten. Diese Bläschenbildung während der Hämo- und Plasmolyse ist auf Grund der vergleichenden Untersuchungen anderer Zellen jedoch nicht als ein für diese Zellen spezifischer Vorgang anzusehen und ist auch nicht ohne weiteres auf das Vorhandensein geformter, quellfähiger Elemente zurückzuführen, sondern sie ist offenbar eine generelle Erscheinung zytoplasmatischer Substanz. Damit ist zugleich die Annahme gestützt, daß die Substantia granulofilamentosa zytoplasmatischer Natur ist.

Es ist anzunehmen, daß auch der reife Erythrocyt von einer feinsten Hüllschicht dieses zytoplasmatischen Restmaterials umkleidet ist. Ob man diese als Membran bezeichnen will, ist eine Frage der Definition. Jedenfalls kann im elektronenoptischen Bild einer Ballonhülle am hämolysierten Erythrozyten kein unmittelbarer Beweis für eine zweiseitig scharf begrenzte Membran gesehen werden, da auch kompakte plasmatische Gebilde nach der gleichen Behandlung wie Bläschen erscheinen.

Zusammenfassung.

Die wahre Beschaffenheit der ursprünglichen Zellgrenzschichten kann aus dem elektronenoptischen Bild nicht unmittelbar abgelesen werden. Nach den notwendigen Vorbehandlungen haben wir immer und vor allem das Bild einer Niederschlagsmembran an der Grenze zweier in Wechselwirkung stehender Medien vor uns. Darunter kann sich das Substrat der natürlichen Grenzschicht verbergen, das ebenso gut in einer losen Anordnung oberflächlicher Moleküllagen unter der Einwirkung der Oberflächenkräfte wie in einer nach außen zu mehr oder weniger stabilen Verstärkung der Protoplasmastruktur bestehen kann. Gegen die Annahme einer starren Membran, die nur durch Poren bestimmter Größe hindurch passierbar ist, spricht der während der Plasmolyse der verschiedensten Objekte beobachtete Durchtritt auch größerer Partikel durch die Randschichten der Zelle und der Zerfall des Protoplasmas in Tropfen und allseits geschlossene Bläschen.

Literatur.

[1] Bernhard, W., H. Braunsteiner, u. H. Mangini: C. r. Soc. Biol. **143**, 1513 (1949). — [2] Hug, O., W. Lippert, u. P. Moser: im Druck. — [3] Jung, F.: Klin. Wschr. **21**, 917 (1942). — [4] Jung, F.: Klin. Wschr. **24/25**, 459 (1947). — [5] Jung, F.: Klin. Wschr. **27**, 232 (1949). — [6] Jung, F.: Naturwiss. **37**, 254 (1950). — [7] Lindemann, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 439 (1949). — [8] Lindemann, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 44 (1950). — [9] Nauck, E. G., D. Peters, u. R. Wigand: Z. Naturforschg. **5b**, 29 (1950). — [10] Peters, D., u. R. Wigand: Klin. Wschr. **28**, 649 (1950). — [11] Ponder, E.: J. exper. Biol. **26**, 35 (1949). — [12] Wolpers, C., u. H. Ruska: Klin. Wschr. **18**, 1077, 1111 (1939).

Dr. O. Hug, Frankfurt a. M., Max Planck-Institut für Biophysik, Forsthausstr. 70.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 402—410 (1951).

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Dir.: Prof. Dr. W. Seitz)
und aus dem Organ.-Chem. Institut der Technischen Hochschule München
(Dir.: Prof. Dr. St. Goldschmidt).

I. Mitteilung.

Unterschiede der Gewebeatmung verschiedener Abschnitte des Rattenherzens* **.

Von
Herbert Nowy und Ernst Helmreich***.

(Eingegangen am 29. Januar 1951.)

Die Entwicklung vom primitiven Herzschlauch der Avertebraten zum Warmblüterherzen manifestiert sich auch in einer weitgehenden Differenzierung der Feinstruktur und der funktionellen Eigenschaften der verschiedenen Anteile des Herzens.

Strukturelle Unterschiede zwischen spezifischer und Arbeitsmuskulatur, ebenso wie zwischen Vorhof- und Kammermuskulatur sind schon lange bekannt[1]. So zeigen die einzelnen Vorhoffasern größere Kaliberunterschiede; auffallend breite finden sich neben dünnen Fasern. Seitliche Anastomosen scheinen völlig zu fehlen. Das Sarkoplasma ist reichlicher, die Fibrillenzahl geringer als in der Kammer. Aschoff und Tawara fanden die Quer- und Längsstreifung im Vorhof weniger deutlich ausgeprägt. Der Glykogengehalt der Vorhoffaser, besonders im Herzaurikel, ist größer als in der Kammermuskulatur. Der Kern der Vorhofmuskelfaser zeichnet sich durch auffallende Größe aus. Aus den Ergebnissen der anatomischen Untersuchungen von M. Werner[2], die an verschiedenen Säugerherzen (Schwein, Rind, Ratte) vorgenommen wurden, läßt sich errechnen, daß auf Volumeneinheit bezogen, die Vorhofmuskelzelle der Ratte wesentlich schlanker sein und eine relativ größere Oberfläche besitzen muß, als die dickere Kammermuskelzelle. Der Vorhofmuskel wird im allgemeinen als weniger differenziert bezeichnet[1].

Messungen von L. Wendt und H. Hesse[3] zeigten auch in der Kammermuskulatur Unterschiede der Faserdicke. So wurden die Fasern der linken Kammer im Durchschnitt um 25% breiter gefunden als die der rechten Kammer. Im jugendlichen Herzen weist die Kammerbasis größere Muskelfasern auf als die Herzspitze.

Unterschiede der anatomisch in allen Teilen gleichartig oder sehr ähnlich gebauten Herzkammermuskulatur finden sich aber deutlicher als im histologischen Bild in ihrem andersartigen funktionellen Verhalten. Hierauf hat Kisch[4] verwiesen. Noch ausgeprägtere Unterschiede sind daher von solchen Abschnitten zu erwarten, die sich bereits anatomisch oder histochemisch deutlich unterscheiden lassen.

---

* Herrn Prof. Dr. St. Goldschmidt zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Eine kurze, vorläufige Mitteilung ist in der Klinischen Wochenschrift **28**, 21/22, 371 (1950) erschienen.

*** Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich (E. H.) für die Förderung meiner Arbeiten durch Gewährung eines Forschungsstipendiums.

Vor allem die spezifische energetische Leistung der Herzmuskelfaser — die Kontraktion —, die in ihrem zeitlichen Ablauf leicht zu erfassen ist, erlaubt einen tieferen Einblick in das differente Verhalten verschiedener Abschnitte des Herzens: Die Dauer der Kontraktion der Vorhoffaser ist kürzer als die der Kammerfaser. Ihr zeitliches Verhältnis ist etwa 1 : 3. Auch innerhalb der Kammermuskulatur ist der zeitliche Ablauf der Kontraktion unterschiedlich. Wie kinematographische Aufnahmen beweisen, dauert die Systole in den Basisanteilen der Kammer länger als im Herzspitzengebiet[5]. Auf Grund solcher Beobachtungen sind wohl auch Differenzen der absoluten kontraktilen Kraft der Einzelfaser zu erwarten.

Nach Lewis[6] sind Leitungsgeschwindigkeit und Refraktärphase nicht in allen Herzzonen gleich. Die Leitfähigkeit soll zunehmen in der Reihenfolge: Purkinjefaser — Vorhof — Kammer-Knoten. Die Refraktärphase soll sich umgekehrt verhalten. Diese Größen hat Lewis mit der Faserdicke und dem Glykogengehalt in Beziehung gebracht.

Auch die Gefäßversorgung zeigt in den einzelnen Anteilen des Herzens beträchtliche Unterschiede. Nach Wearn und Zschiesche[7] entfallen in der Kammermuskulatur auf 1000 Fasern etwa 1000—1100 Kapillaren, in den Vorhöfen und Purkinje-Fasern jedoch bedeutend weniger (500—560). Linzbach[8, 9] verweist auf die relative Kapillararmut des jugendlichen Herzens. Doch im Vorhof und in den Kammerinnenschichten (Subendokard) ist das Kapillarsystem auch des erwachsenen Herzens geringer entwickelt. Offenbar Residuen phylogenetischer und ontogenetischer Entwicklung, deren Richtung von einer ursprünglichen Ernährung des Herzmuskels durch Diffusion aus dem Blut der Herzhöhle schließlich zu einer ausreichenden Blutversorgung durch ein adäquat ausgebildetes Kapillarsystem verläuft.

Die Annahme, morphologische und funktionelle Eigenart verschiedener Abschnitte des Herzens müßten sich auch in einer unterschiedlichen Größe und Beeinflußbarkeit der Gewebeatmung auswirken, hat uns veranlaßt, vorliegende Untersuchungen vorzunehmen. Sie dienten gleichzeitig als Basis für die Untersuchungen über den Einfluß von Strophanthin auf die Gewebeatmung verschiedener Abschnitte des Rattenherzens, über die in Mitteilung II berichtet werden soll.

Experimenteller Teil*.

Tiermaterial.

Untersucht wurden die Herzen von 6—8 Monate alten Ratten gleicher Zucht mit einem Durchschnittsgewicht von 250 g. Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet, Hals und Wirbelsäule durchtrennt, der Thorax mit einem Scherenschlag vom Abdomen bis zum Hals eröffnet. Das schlagende Herz freipräpariert und in eine sauerstoffdurchströmte Ringer-Lösung von Zimmertemperatur eingebracht.

Anfertigung von Gewebeschnitten.

A. Schnitte aus der linken Ventrikelspitze und -basis und dem Papillarmuskel.

Nachdem das spontan schlagende Herz sich weitgehend von Blut leergepumpt hatte, wurden die Vorhöfe abgetrennt und die Ventrikel eröffnet. Das Präparat wurde, auf angefeuchtetem Filterpapier liegend, mit Ringer überschichtet. Durch

* Herrn cand. med. H. Gramss danken wir auch an dieser Stelle ganz besonders für seine ausgezeichnete experimentelle Mitarbeit[10].

Aufbiegen der Ränder des Filters und Einbringen in ein niedriges Außengefäß wurde ein Abfließen der Flüssigkeit verhindert. Mit einer Rasierklinge, die zur besseren Führung an einem langen Halter befestigt ist, wurden gleichmäßige Längsschnitte im Faserverlauf in einer Dicke von etwa 0,5 mm geführt. So kam der Gewebeschnitt mit der Klinge nur unter der Oberfläche der Ringer-Lösung, die das ganze Präparat bedeckte, in Berührung. Der Papillarmuskel wurde mit der Klinge im Verlauf der Längsachse mit 1—2 parallel laufenden Schnitten zerteilt.

B. Vorhofschnitte.

Die Vorhofwand, die beim Rattenherzen die nötige Grenzschnittdicke aufweist, wurde mit der Schere in verschieden breite Streifen geschnitten.

Die Schnitte aus Vorhof, Papillarmuskel, Ventrikelspitze und -basis wurden vorsichtig unter Vermeidung von Quetschung und jeder zusätzlichen Schädigung präpariert. In der Nährlösung wurden die Schnitte von Sauerstoff umspült.

Nährlösung: Bikarbonat-Ringer-Lösung: 0,155 m NaCl, 0,155 m KCl, 0,155 m $NaHCO_3$, 0,11 m $CaCl_2$.

Wenn die Bikarbonatlösung alkalisch ist, muß sie mit CO_2 durchströmt werden, bis sie nicht mehr alkalisch gegen Phenolphthalein reagiert.

Mischverhältnis der Lösungen: 96 Vol. NaCl, 2 Vol. KCl, 2 Vol. $CaCl_2$.

Das Verhältnis Bikarbonat: Ringer = 1 : 3. Glukose Endkonzentration: 2 ‰. p_H 7,4; p_H-Kontrolle mittels Glaselektrode, vor und nach dem Versuch.

Atemgas.

Zur Herstellung prozentual verschieden zusammengesetzter Gasgemische wurde dem Sauerstoff jeweils Stickstoff zugesetzt. Ein üblicher Gasometer, vorher mit Wasser gefüllt, wurde auf Auslauf geeicht. Das Mischungsverhältnis wurde mittels einer kommunizierenden Gasbürette genau kontrolliert.

Der Sauerstoffgehalt des Industriestickstoffes (Lindeverfahren) wurde nach der kolorimetrisch-analytischen Methode von Mugdan und Sixt[11] zu 0,5—1% bestimmt und in Abzug gebracht. Teilweise erfolgte auch die Befreiung des Industriestickstoffes von Sauerstoff durch Leiten über fein verteiltes glühendes Kupfer. Der Industriesauerstoff wurde vorher mit frischer Permanganatlösung gewaschen.

Dauer der Begasung pro Trog 2 min, was einem Gaswechsel von 1 l pro Trog entspricht.

Allgemeine Versuchsbedingungen.

Im Warburg-Trog 3cm³ Ringer, im Absorptionstrog 0,3 cm³ KOH 15% mit Filterstreifen, Schüttelgeschwindigkeit 100 Schwingungen pro min.

Auf Temperaturkonstanz wurde vor allem mit Rücksicht auf die Versuche bei geringem Sauerstoff-Angebot, die nur geringe Atemwerte zu messen erlauben, besonderer Wert gelegt. Temperatur konstant bis auf $\pm$ 0,005—0,01° C. Temperatur 37° C.

Die Reaktionsgefäße wurden spätestens 20 min nach dem Töten des Versuchstieres in den Thermostaten eingebracht. Beginn der Messungen nach Temperaturausgleich. Versuchsdauer im allgemeinen 4 Std. Ablesungen in Abständen von 20 min. Die Werte der 2. Std des Versuchsverlaufes wurden jeweils als Vergleichsgröße betrachtet.

In jedem Trog etwa 3 Schnitte mit einem durchschnittlichen Trockengewicht von etwa 20 mg.

Nach Beendigung des Versuches wurden die Gewebeschnitte mit Aqua dest. gewaschen, in verschließbare Analysenschälchen eingebracht und 2 Std im Brutschrank bei 120° getrocknet. Wägung nach Abkühlen im verschlossenen Schälchen auf $^1/_{10}$ mg genau.

Versuchsergebnisse*.

Herzpartie	QO_2 für die 2. Std	Prozent des Vorhofwertes	Anzahl der Versuche**
Atemgas 100% O_2			
Vorhof	18,6	100	9
Papillarmuskel	6,7	35	8
Ventrikelspitze	6,0	32	18
Ventrikelbasis	4,8	26	21
Atemgas 20% O_2 (80% N_2)			
Vorhof	10,7	100	17
Papillarmuskel	3,9	36	21
Ventrikelspitze	3,3	30	32
Ventrikelbasis	2,5	23	30
Atemgas 10% O_2 (90% N_2)			
Vorhof	4,3	100	8
Papillarmuskel	2,6	60	7
Ventrikelspitze	1,9	44	12
Ventrikelbasis	1,6	37	13
Atemgas 6% O_2 (94% N_2)			
Vorhof	4,0	100	12
Papillarmuskel	2,1	52	13
Ventrikelspitze	1,8	45	16
Ventrikelbasis	1,4	35	17

* Werte jeweils angegeben als $QO_2 = \frac{\text{mm}^3 \text{ Sauerstoff}}{\text{mg Trockengewicht}}$/Std. Wir haben grundsätzlich nur die Werte der 2. Std als Vergleichsgrößen benutzt.

** Die unterschiedliche Zahl der Versuche ergibt sich aus der verschieden schwierigen Zugänglichkeit der einzelnen Abschnitte des kleinen Rattenherzens.

Verhalten der Gewebe bei 2% O_2.*

Zeitpunkt des Sistierens der O_2-Aufnahme. Der Effekt einer Wiederbegasung mit 100% O_2, 1 Std nach Atemstillstand.

Herzpartie	2% O_2					Wiederbegasung 100% O_2									Anzahl der Versuche
	1 Std					1 Std									
	0′–20′	20′–40	40′–60′	60′–80′	80′–100′	100′–120′	120′–140′	140′–160′	160′-180′	180′-200′	200′-220′	220′-240′	240′-260′		
Vorhof	5,6(!)**	1,4	0	0	0	0	0	0							4
Papillarmuskel	2,4(!)**	0,3	0	0	0	0	0	0							4

Atemstillstand

	2% O_2							1 Std			Wiederbegasung 100% O_2 1 Std			QO_2 nach Wiederbegasung mit 100% O_2 200′-260′	
Ventrikelspitze	1,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,1	0	0	0	1,3	1,9	2,6	5,8	10
Ventrikelbasis	1,2	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0	0	0	0,9	1,7	2,4	5,0	9

Atemstillstand

* Zur genauen Kontrolle der Thermoschwankung wurde grundsätzlich jedem Reaktionsmanometer ein Thermomanometer mit gleicher Gefäßkonstante beigegeben.

** Auffallend ist der hohe O_2-Verbrauch — wohl als Ausdruck der Schädigung der Zellmembranen[12] — bei Vorhof und Papillarmuskelschnitten, 20 min nach Versuchsbeginn.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Vorhof und Kammerpartien unterscheiden sich deutlich in ihrem O_2-Verbrauch. Unterschiede der Gewebeatmung der einzelnen Kammerpartien finden sich zwar in sämtlichen Versuchen, sind jedoch in Anbetracht der experimentellen Fehlermöglichkeiten[13] zu gering, um aus ihnen Folgerungen abzuleiten. So fanden sich für den Papillarmuskel allgemein etwas höhere QO_2-Werte als für die übrigen Kammerpartien.

Die QO_2-Werte von Vorhof und Kammerpartien verhalten sich bei abnehmendem Sauerstoffgehalt des Atemgases wie folgt:

Herzpartie	100% O_2		20% O_2		10% O_2		6% O_2	
	QO_2	Verhältniszahl	QO_2	Verhältniszahl	QO_2	Verhältniszahl	QO_2	Verhältniszahl
Vorhof	18,6	10	10,7	10	4,3	10	4,0	10
Kammerpartien* . .	5,8	3	3,2	3	2,0	4,7	1,8	4,5

* Für alle Kammerpartien (Papillarmuskel, Ventrikelspitze und -basis) wurde ein QO_2-Mittelwert errechnet.

Demnach liegt der QO_2-Wert des Vorhofs bei 100% bis 20% Sauerstoff im Atemgas um etwa das 3fache höher, wie der QO_2-Wert der Kammerpartien.

Bei niedrigerem O_2-Angebot (10%—6% O_2) nimmt der Vorhof nur noch um etwa das Doppelte mehr Sauerstoff auf als die Kammerpartien.

Bei stark vermindertem Sauerstoffgehalt des Atemgases (2% O_2 und 98% N_2) kam die Gewebeatmung von Vorhof und Papillarmuskel bereits nach 40 min irreversibel zum Stillstand, während Spitze und Basis entsprechend niedrig weiteratmeten und erst 140 min nach Ablesungsbeginn keine O_2-Aufnahme mehr gemessen wurde. Die Wiederbegasung mit 100% O_2 — 1 Std. nach Atemstillstand — blieb bei Vorhof und Papillarmuskel ohne Effekt, während Kammerbasis und Spitze sich rasch erholten. Bei einem O_2-Gehalt von 1,5% (98,5% N_2) nimmt *kein* Gewebeabschnitt mehr meßbar Sauerstoff auf.

Diskussion.

Die Energie liefernde Reaktion, die bei geringstem Stoffumsatz die größten Energiemengen freimacht, ist die Aerobiose. Zur Differenzierung der verschiedenen Zonen des Herzens — eines überwiegend aeroben Organs — erscheint daher die quantitative Bestimmung ihres Sauerstoffverbrauches geeignet.

Nach O. Warburg[14] ist der Sauerstoffverbrauch überlebender Gewebe eine Funktion der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit, die sich aus der Warburgschen Formel errechnen läßt. Eine Größe dieser Formel ist die Grenzschnittdicke, d. h. die Zellschicht, die gerade noch ausreichend mit Sauerstoff versorgt wird. Sie soll bei Gewebeschnitten weniger als 0,5 mm bei einer O_2-Tension von 1 Atm. betragen. Für unsere Versuche war es von ganz besonderer Bedeutung, mit der Forderung der Grenzschnittdicke die Ausschaltung jeder weiteren Schädigung über die experimentelle Manipulation hinaus in Einklang zu bringen. Nach den

Erfahrungen von Druckrey[12] und Mitarbeitern führt verschiedenartige unspezifische Schädigung zu einer erheblichen Steigerung der Membrandurchlässigkeit, die synchron mit einer vorübergehenden Stoffwechselsteigerung und Zunahme der Sauerstoffaufnahme verläuft. Um das Verhältnis geschädigter zu ungeschädigten Zellen günstiger zu gestalten, haben wir grundsätzlich die oberste Grenze der Schnittdicke, etwa 0,5 mm, gewählt und sind besonders schonend verfahren.

Die von uns ermittelten QO_2-Werte liegen etwa in der gleichen Größenordnung, wie die anderer Untersucher[15].

In der ersten Stunde des Versuchsverlaufes nehmen alle Schnitte um etwa 40% mehr Sauerstoff auf, als in der Folge des Versuches. Ab der 2. Std bleiben die Werte annähernd konstant bis zur 6. Std. Der erhöhte QO_2-Wert der 1. Std dürfte Ausdruck der mechanischen Beschädigung des Gewebes durch die experimentellen Manipulationen sein.

Wir haben deshalb zum Vergleich nur die Werte der 2. Std des Versuchsverlaufes — nach Abklingen des passageren Schädigungseffektes — herangezogen.

Versucht man eine Deutung der auffallend großen Unterschiede der Gewebeatmung von Vorhof und Kammer, so darf bei einer kritischen Betrachtung der Methodik folgende Möglichkeit nicht übersehen werden. Vorhofschnitte können während des Versuchs spontan schlagen, während dies bei Ventrikelschnitten viel weniger wahrscheinlich ist. Jedoch konnten wir in Kontrollversuchen unter sonst gleichen Bedingungen weder Spontanaktivität des Muskelschnittes beobachten, noch war es andererseits möglich, isolierte Vorhöfe durch rhythmische elektrische Reizung im gleichen Milieu längere Zeit am Schlagen zu erhalten[16]. Auch die Konstanz der Meßwerte bei 6stündiger Versuchsdauer spricht gegen eine automatische Aktivität.

Ein Faktor jedoch, der kaum auszuschalten ist, liegt in der Schnittführung und ihrer geringen Variationsmöglichkeit bei dem kleinen Objekt. Immerhin hat sich ergeben, daß die im Rahmen des Möglichen verschieden breit geschnittenen Vorhofstreifen keine wesentlich veränderte Sauerstoffaufnahme aufweisen.

Da man eine direkte Einwirkung auf das O_2-übertragende Fermentsystem infolge der Länge des Diffusionsweges mit Sicherheit ausschalten kann[17], muß das unterschiedliche Verhalten der Gewebeatmung verursacht sein durch ein unterschiedliches Diffusionsvermögen, d. h. ein unterschiedliches Verhalten der Permeabilität der Zellmembran gegen Sauerstoff. Der Unterschied der Sauerstoffaufnahme von Vorhof und Kammerpartien scheint somit auf den dem Gewebe inhaerenten Faktoren zu beruhen, die in einer heute noch nicht klar zu übersehenden Weise mit Besonderheiten der Struktur und funktionellen Eigenarten verknüpft sind.

Es ist kaum anzunehmen, daß die allgemeine Beziehung[13], nach der Gewebe größerer vitaler Leistung auch einen größeren Sauerstoffverbrauch haben, den Unterschied von Vorhof und Kammer erklären kann. Dagegen erscheint es begründet, die Ursache für den größeren Sauerstoffverbrauch des Vorhofgewebes — als Ausdruck einer besonders ausgebildeten Fähigkeit seiner Zellmembranen zur Sauerstoffdiffusion — in einer primitiveren Struktur zu suchen.

Das primitive Herz besitzt die Fähigkeit, Nährstoffe und Sauerstoff ausschließlich durch Diffusion aus dem Blut der Herzhöhle zu entnehmen, ein Stadium, das auch das Säugerherz im Gange der embryonalen Entwicklung durchläuft.

Als weiteres Argument kann auch die geringere Kapillarisierung des Vorhofmyokards — und der Innenschichten der Kammer — in eine solche Betrachtung einbezogen werden[7, 8, 9].

Membranen mit hohem Diffusionsvermögen sind aber besonders empfindlich gegen Sauerstoffmangel. Chang, Shaffer und Mitarbeiter konnten experimentell nachweisen, daß Nervenmembranen nur in Anwesenheit von Sauerstoff ihre normale, molekulare Organisation aufrecht erhalten, von der der normale polarisierte Ruhezustand abhängt[18]. Zu gleichen Ergebnissen haben auch Versuche von Huf, Lund, Francis u. a. an der ausgeschnittenen Froschhaut geführt[19]. Nach Ausführungen von A. v. Muralt[20] darf man für die Beziehung oxydativer Stoffwechsel und Zustand der Nervenmembran nach Schrödinger folgendes annehmen:

Durch oxydative Stoffwechselvorgänge wird die Ordnung des Zustandes aufrecht erhalten, was sich aus der Thermodynamik durch folgende Formel beschreiben läßt:

$$-S = K \cdot \log \frac{1}{W},$$

S = Entropie. K = Konstante. W = Thermodynamische Wahrscheinlichkeit des Zustandes, oder ein quantitatives Maß der Unordnung, also ist: 1/W ein Maß für den Ordnungsgrad des Zustandes.

So würde sich auch der überraschende Befund erklären lassen, daß Vorhof- und Papillarmuskelschnitte einem Sauerstoffmangel durch Zusammenbruch ihrer Membranen schneller erliegen als die Kammerabschnitte.

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe der manometrischen Methodik nach Warburg wurde in 281 Einzelversuchen der Sauerstoff-Verbrauch von Gewebeschnitten aus Vorhof, Papillarmuskel, Ventrikelspitze und -basis des Rattenherzens ermittelt.

2. Der Vorhof zeigt gegenüber den Kammerpartien einen auffallend höheren Sauerstoff-Verbrauch.

3. Die Unterschiede der Sauerstoff-Aufnahme der Kammerpartien liegen zwar innerhalb der Fehlergrenze, jedoch wiederholen sie sich in sämtlichen Versuchen in gleicher Reihenfolge.

4. Bei stark vermindertem Sauerstoff-Gehalt des Atemgases (2% O_2, 98% N_2) kommt es bei Vorhof und Papillarmuskelschnitten zu irreversiblem Atemstillstand. Eine Wiederbegasung mit reinem O_2 bleibt ohne Effekt. Ventrikelspitze und -basis weisen entsprechend niedrige, noch experimentell erfaßbare Atemwerte auf. Bei Wiederbegasung mit reinem O_2 tritt rasche Erholung ein.

5. Es wird versucht, die Unterschiede der Gewebeatmung verschiedener Abschnitte des Rattenherzens auf ein verschiedenartiges Diffusionsvermögen der Zellmembranen zurückzuführen und durch unterschiedliche Differenzierung ihrer Strukturen zu erklären.

Literatur.

[1] Benninghoff, A.: Handb. d. mikrosk. Anat. d. Menschen Bd. 6/1 Berlin (1930), S. 190 u.a.O. — [2] Werner, M.: Arch. mikrosk. Anat. u. Entwicklungsgeschichte (O. Hertwig u. W. Waldeyer), Berlin **75** (1910). — [3] Wendt, L., u. H. Hesse: Virchows Archiv **314**, 294 (1947). — [4] Kisch, B., in: Bethe-Bergmann: Handb. d. norm. u. path. Physiol Bd. VII/1, S. 715 (1926/27). — [5] Lutembacher: Arch. Mal. Cœur **30**, 191 (1937); **31**, 25 (1938); zit. nach Schaefer, H.: Arch. Kreislaufforschg. **15**, 173 (1949). — [6] Lewis, Th.: The Mechanism and Graphic Registration of the Heart Beat, London (1925). — [7] Wearn, J. T., u. L. S. Zschiesche: J. of Exper. Med. **47**, 273—291 (1928). — [8] Linzbach, A. J.: Z. inn. Med. **2**, 144 (1947). — [9] Linzbach, A. J.: Virchows Archiv **314**, 5/6, S. 557 (1947). — [10] Gramss, H.: Dissertation, Universität München (1951). — [11] Mugdan u. Sixt: Angew. Chem. **46**, 90 (1933). — [12] Druckrey, H., N. Brock u. H. Herken: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 231 (1936); **188**, 436, 451 (1938). — Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [13] Krebs, H. A.: Oppenheim-Pincussen, Handb. d. Biochemie, Erg.-Werk 1. — [14] Warburg, O.: Biochem. Z. **142**, 317 (1923) u.a.O. — [15] Webb, J. L., P. R. Saunders u. Cl. H. Thienes: Arch. Biochem. **22**, 3, 444 (1949). — [16] Vgl. Mitteilung II: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 411, (1951). — [17] Warburg, O., u. F. Kubowitz: Biochem. Z. **214**, 5 (1929). — [18] Chang, T. H., M. Shaffer u. R. W. Gerard: Amer. J. Physiol. **111**, 681 (1935); vgl. auch: Höber, R.: Physik. Chemie d. Zellen u. Gewebe, 17/5 u. 38/8, Bern (1947). — [19] Huf, E.: Pflügers Arch. **235**, 655 (1935). — [20] Muralt, A. v.: „Die Nervenleitung, ein biol. und technisches Problem", Vortrag anl. d. Jahresfeier d. Techn. Hochschule München (1950).

Dr. Herbert Nowy, München, Medizin. Poliklinik der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 411—424 (1951).

Aus dem Organ.-Chem. Institut der Technischen Hochschule München
(Dir. Prof. Dr. St. Goldschmidt)
und aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Dir. Prof. Dr. W. Seitz).

II. Mitteilung.

Untersuchungen über den Einfluß von Strophanthin auf die Gewebeatmung des Herzens* **.

Von
Ernst Helmreich*** und Herbert Nowy.

(Eingegangen am 29. Januar 1951.)

Große Dosen von Digitalisglykosiden können bei Versuchstieren morphologisch erkennbare degenerative Veränderungen am Herzmuskel[1-4] und an anderen Organen wie Gehirn, Leber und Nebenniere hervorrufen[5]. Am Herzen, besonders in den Innenschichten des linken Ventrikels, in den Trabekeln und an den Papillarmuskeln finden sich disseminierte Nekrosen resp. Narben.

Ähnlich geartete und lokalisierte Veränderungen fand Büchner auch bei der Autopsie menschlicher Herzen bei Angina pectoris[6], einer Krankheit, die auf ein Mißverhältnis von Sauerstoff-Angebot und -bedarf des Herzmuskels zurückgeführt wird. Erzeugt man im Tierexperiment eine solche „Coronarinsuffizienz" künstlich durch erschöpfende Belastung stark ausgebluteter Kaninchen, so kann man ebensolche Veränderungen beobachten[7].

Es lag daher nahe, auf Grund solcher Gleichartigkeit der Herzmuskelschädigungen auch für die Digitalis-bedingten Veränderungen eine Coronarinsuffizienz als Ursache anzunehmen.

Einen weiteren Hinweis gab das Elektrokardiogramm, denn auch hier finden sich unter den beschriebenen Voraussetzungen[8] weitgehend ähnliche Veränderungen am ST—T Segment des Kammer-Elektrokardiogramms.

Unsere Fragestellung nimmt ihren Ausgang einerseits von pathologisch-anatomischen Beobachtungen einer bevorzugten Lokalisation der

* Herrn Prof. Dr. Dr. A. W. Forst zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Eine kurze, vorläufige Mitteilung eines Teiles der vorliegenden Untersuchungen ist in der Klinischen Wochenschrift 28, 39/40, 686 (1950) erschienen.

*** Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich (E. H.) für die Förderung meiner Arbeiten durch Gewährung eines Forschungsstipendiums.

Nekrosen an den Innenschichten bzw. an den Papillarmuskeln, andererseits von elektrokardiographischen Beobachtungen, die eine unterschiedliche Beeinflußbarkeit des Erregungsablaufes zur Zeit der Erregungsrückbildung an den Kammerfasern anzunehmen fordern. Die Tatsache, daß die unter Digitalis auftretenden Ekg-Veränderungen nicht unbedingt an das Vorhandensein morphologisch faßbarer Strukturänderungen gebunden sind[9, 10], erlaubt die Vermutung, daß im Ekg. bereits funktionelle Änderungen registriert werden, die vielleicht einer morphologisch faßbaren Schädigung vorausgehen.

Um eine verschiedene Ansprechbarkeit einzelner Herzpartien auf Strophanthin experimentell zu erfassen, haben wir eine Versuchsanordnung gewählt, die zunächst den Einfluß der Blutversorgung als einen möglichen maßgeblichen Faktor ausschaltet und andererseits eine vitale Stoffwechselleistung des Herzmuskels — seinen Sauerstoffverbrauch — quantitativ zu beobachten erlaubt.

Darüber hinaus interessiert aber der Einfluß von Strophanthin auf die Gewebeatmung ganz allgemein, da aus den widerspruchsvollen Angaben des Schrifttums kein eindeutiges Bild zu gewinnen ist.

Beim Kaltblüter haben Eismayer und Quincke[11] sowie Gottschalk[12] berichtet, daß hohe Strophanthindosen, die zur Ventrikelkontraktur führen können, die Atmung des isolierten Froschventrikels herabsetzen. Denselben Effekt hat David[13] am strophanthinvergifteten Froschaurikel beobachtet. Da die Abnahme der Atmung mit einer Abnahme der Arbeitsleistung und der Kontraktionskraft einhergehen soll, wurde die Atmungsminderung als Folge der nachlassenden mechanischen Leistung gedeutet. Kurz vor Eintritt der Kontraktur am strophanthinvergifteten Froschherzen soll der Sauerstoffverbrauch nach Gottschalk[12] nur noch 30% des Ausgangswertes betragen. Jedoch behaupten Viktor[14] und Jaffe[15], daß mit toxischen Dosen von Ouabain behandelter Froschventrikel im Kontrakturzustand weit stärker atmet als in Ruhe. Mit niedrigeren Strophanthin-Konzentrationen von 10^{-7} mol fanden Eismayer und Quincke[11] am Froschherz-Durchströmungspräparat beträchtliche Anstiege des Sauerstoffverbrauches. Diese Stoffwechselsteigerung wurde als wesentlicher Strophanthineffekt betrachtet.

Mitarbeiter von Mardones[16] sowie Salomon und Riesser[17] sahen auch durch hohe Digitalis- und Strophanthindosen den Sauerstoffverbrauch des Froschherzens nicht merklich verändert.

Die Divergenz der vorliegenden Angaben ließ es wünschenswert erscheinen, auch am Kaltblüterherzen die Frage der Beeinflussung des oxydativen Stoffwechsels durch Strophanthin neuerdings aufzugreifen.

Wir haben daher

1. den Einfluß von Strophanthin auf den Sauerstoffverbrauch von Vorhof, Papillarmuskel, Kammerbasis und -spitze des Rattenherzens bei reinem Sauerstoff als Atemgas sowie auch bei vermindertem Sauerstoffangebot am überlebenden Gewebeschnitt und am Herzgewebeschnitt der mit Strophanthin vorbehandelten Ratte mit der manometrischen Methodik nach Warburg untersucht, und

2. den Einfluß von Strophanthin und Konvallaria auf den Sauerstoffverbrauch des rhythmisch gereizten Froschventrikels manometrisch registriert.

Experimenteller Teil[+]

Untersuchungen am Herzgewebeschnitt der Ratte.

Die Anfertigung der Gewebeschnitte erfolgte gemäß unseren Angaben in Mitteilung I[18]. Hier finden sich auch die allgemeinen Versuchsbedingungen.

Die Versuchsergebnisse, die in Mitteilung I veröffentlicht sind, sind als Vergleichsgrößen der vorliegenden Untersuchung zugrunde gelegt (Spalte 1 der Versuchsergebnisse).

Dosis und Applikation von Strophanthin.

Verwendet wurde k-Strophanthin in Form des handelsüblichen Kombetins (C. F. Boehringer GmbH., Mannheim-Waldhof).

Da ein genaues Molekulargewicht des Gemisches der Mono-, Di- und Triglykoside nicht angegeben werden kann, haben wir die Konzentration in Prozent berechnet.

1. Strophanthin wurde im allgemeinen bereits in der Nährlösung in einer Endkonzentration von $8 \cdot 10^{-4}\% \approx 10^{-5}$ mol gelöst. (Spalte II der Versuchsergebnisse.)

2. Vereinzelt wurde Strophanthin auch 1 Std nach Versuchsbeginn in das Reaktionsgefäß eingekippt, wobei die Endkonzentration gleicherweise $8 \cdot 10^{-4}\% \approx 10^{-5}$ mol betrug (Spalte IIa der Versuchsergebnisse).

Versuchsergebnisse*.

Atemgas 100% O_2

I			II			IIa			III		
Vergleichswerte ohne Stroph.			Stroph. in RINGER gelöst Endkonz.: $8 \cdot 10^{-4}\%$			Stroph. eingekippt*** Endkonz.: $8 \cdot 10^{-4}\%$			Stroph.-Injektion 1 mg/100 g Ratte		
Herzpartie	QO_2 60′–120′	Anzahl Vers.**	QO_2 60′–120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.	QO_2 60′–120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.	QO_2 60′–120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.
Vorhof	18,6	9	16,2	13	4	13,8	26	9	14,4	23	8
Papill.-Muskel	6,7	8	3,5	*48*	4	3,0	*55*	10	3,0	*55*	8
Ventrik.-Spitze	6,0	18	4,5	25	4	4,0	34	9	4,3	29	8
Ventrik.-Basis	4,8	21	4,3	11	4	3,6	25	9	3,8	21	8

* Werte jeweils angegeben als $QO_2 = \frac{\text{mm}^3\ O_2}{\text{mg Trock.-Gew.}} / \text{Std}$

Wir haben grundsätzlich nur die Werte der 2. Std berechnet. Die Abnahme ist in Prozent der Vergleichswerte ohne Strophanthin (Spalte I) angegeben.

** Die unterschiedliche Zahl der Versuche ergibt sich aus der verschieden schwierigen Zugänglichkeit der einzelnen Abschnitte des kleinen Rattenherzens.

*** Strophanthin wurde 1 Std nach Versuchsbeginn eingekippt.

[+] Herr cand. med. W. SCHNITZER[19] und Herr cand. med. L. DAFFNER[20] haben uns, fleißig und zuverlässig, experimentell bestens unterstützt.

Atemgas: 20% O_2 (80% N_2)

I			II			IIa			III		
Vergleichswerte ohne Stroph.			Stroph. in RINGER gelöst Endkonz.: $8 \cdot 10^{-4}$%			Stroph. eingekippt Endkonz.: $8 \cdot 10^{-4}$%			Stroph.-Injektion 1 mg/100 g Ratte		
Herzpartie	QO_2 60′—120′	Anzahl Vers.	QO_2 60′—120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.	QO_2 60′—120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.	QO_2 60′—120′	Abnahme in %	Anzahl Vers.
Vorhof	10,7	17	9,9	8	20	8,8	18	5	8,7	19	4
Papillarmuskel	3,9	21	2,4	*39*	18	2,3	*42*	5	2,1	*46*	4
Ventrik.-Spitze	3,3	32	2,7	18	30	2,6	21	4	2,5	24	4
Ventrik.-Basis	2,5	30	2,1	16	28	2,0	20	5	2,0	20	4

Atemgas: 10% O_2 (90% N_2)

I			II			III		
Vergleichswerte ohne Strophanthin			Strophanthin in RINGER gelöst Endkonz.: $8 \cdot 10^{-4}$%			Strophanthin-Injektion 1 mg/100 g Ratte		
Herzpartie	QO_2 60′—120′	Anzahl Versuche	QO_2 60′—120′	Abnahme in %	Anzahl Versuche	QO_2 60′—120′	Abnahme in %	Anzahl Versuche
Vorhof	4,3	8	3,5	19	8	3,2	26	4
Papillarmuskel	2,6	7	1,6	*38*	6	1,2	*54*	4
Ventrik.-Spitze	1,9	12	1,5	22	10	1,3	32	4
Ventrik.-Basis	1,6	13	1,4	13	9	1,2	25	4

Atemgas: 2% O_2* (98% N_2)

Vorhof	0	4	0	0	12			
Papillarmuskel	0	4	0	0	12			
Ventrik.-Spitze**	1,1	10	0,8	27	13			
Ventrik.-Basis**	0,8	9	0,8	0	14			

* Vgl. Mitteilung I.

** Nach 2 Std keine O_2-Aufnahme mehr.

Das Verhalten von Gewebeschnitten Strophanthin-vorbehandelter Ratten (Strophanthin: 1 mg/100 g Ratte) bei sehr geringem Sauerstoffangebot.

Herzpartie	Atemgas: 2% O_2 (98% N_2)						Atemgas: 1,5% O_2 (98,5% N_2)*					
	Vergleichswerte ohne Strophanthin QO_2 (2. Std)	QO_2 1. Std	QO_2 2. Std	QO_2 3. Std	QO_2 4. Std	Anzahl der Versuche	Vergleichswerte ohne Strophanthin	QO_2 1. Std	QO_2 2. Std	QO_2 3. Std	QO_2 4. Std	Anzahl der Versuche
Vorhof	*0*	2,0	*1,2*	0,9	0,8	4	0	1,2	0,9	0,4	0,5	4
Papillar-Muskel	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	4	0	*0*	*0*	*0*	*0*	4
Ventrik.-Spitze	*1,1*	0,9	*0,9*	0,5	0,6	4	0	0,8	0,5	0,3	0	4
Ventrik.-Basis	*0,8*	0,9	*0,8*	0,5	0,4	4	0	0,7	0,5	0,2	0,3	4

* Bei einem Sauerstoffgehalt von 0,5% (99,5% N_2) des Atemgases findet kein verwertbarer Sauerstoffverbrauch mehr statt.

3. Strophanthin wurde Ratten in einer Konzentration von 1 mg/100 g Rattengewicht i.m. oder i.p. injiziert. In mehreren orientierenden Experimenten zeigte sich der Eintritt der Strophanthinwirkung elektrokardiographisch an der typischen Digitalisveränderung — der Senkung des ST-T-Segments —, die sich etwa 1 Std lang registrieren läßt. 45 min nach der Injektion wurden die Tiere getötet, die Gewebeschnitte in üblicher Weise präpariert und der Versuch begonnen (Spalte III der Versuchsergebnisse).

Zur Ekg-Registrierung wurden die Tiere mit Evipan-Natrium (Dosis etwa 4 mg je 100 g Rattengewicht) narkotisiert. Evipan allein im Kontrollversuch verursachte keine wesentliche Veränderung des Kurvenablaufs und der Sauerstoffaufnahme der Herzgewebeschnitte.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Untersuchungen am Herzgewebeschnitt der Ratte.

Verhalten der Gewebe bei 100, 20 und 10% Sauerstoff als Atemgas.

1. Der O_2-Verbrauch von Gewebeschnitten, deren Nährlösung von Versuchsbeginn an Strophanthin in einer Endkonzentration von 10^{-5} mol enthält, wird deutlich gehemmt. Prozentual am stärksten wird der Papillarmuskel betroffen.

2. Wird Strophanthin — 1 Std nach Versuchsbeginn — in das Reaktionsgefäß eingekippt — Endkonzentration $\approx 10^{-5}$ mol —, so nimmt der Sauerstoffverbrauch im allgemeinen etwas stärker ab als bei den in Strophanthin inkubierten Schnitten. Auch hier wird der Sauerstoffverbrauch des Papillarmuskels am stärksten herabgesetzt.

3. Eine annähernd gleichstarke Hemmung der Sauerstoffzehrung wie bei Versuchsanordnung 2 zeigen die Gewebeschnitte der Herzen strophanthinvorbehandelter Ratten (1 mg/100 g Ratte). Prozentual nimmt der Papillarmuskelschnitt am wenigsten Sauerstoff auf.

4. Unterschiede der anderen Herzpartien sind zwar vorhanden, jedoch in Anbetracht der Fehlermöglichkeiten der Methodik kaum exakt zu verwerten.

Verhalten der Gewebe bei sehr geringem Sauerstoffangebot, 2% O_2 und 1,5% O_2.

Bei 2% O_2 nehmen Vorhof und Papillarmuskel ohne Zusatz von Strophanthin nach 40 min keinen Sauerstoff mehr auf. Dieser Atemstillstand ist irreversibel, er kann auch durch nachfolgende Wiederbegasung mit reinem Sauerstoff nicht mehr behoben werden.

Vorhof- und Papillarmuskelschnitte, die in strophanthinhaltiger Nährlösung inkubiert sind, verhalten sich analog. Die Sauerstoffaufnahme sistiert, während Ventrikelspitze und -basis auf niedrigem Niveau noch 2 Std konstant weiteratmen.

Gewebeschnitte strophanthinvorbehandelter Herzen zeigen hingegen eine auffallende Resistenz gegen Sauerstoffmangel. Mit Ausnahme des Papillarmuskels, der in keinem Versuch noch meßbar Sauerstoff aufnimmt, atmen alle Schnitte, *auch Vorhofschnitte*, bei 2% O_2 und 1,5% O_2 4 Std lang konstant. Schnitte aus der Ventrikelspitze hören bei 1,5% O_2 nach 3 Std auf zu atmen.

Letztgenannte Ergebnisse sind allerdings unter extremen Versuchsbedingungen ermittelt worden, so daß wir auf weitergehende Schlußfolgerungen verzichten.

Untersuchungen am rhythmisch gereizten Froschventrikel.

Zur Messung des O_2-Verbrauches bedienten wir uns wieder der manometrischen Methode nach Warburg und verwendeten ein für unsere Zwecke modifiziertes Reaktionsgefäß üblicher Konstruktion mit einer einfachen Anordnung zur rhythmischen Reizung.

Verglichen mit den bekannten Versuchsanordnungen am Froschherz-Durchströmungspräparat sehen wir den Vorteil unserer Methodik in der außerordentlich einfachen Handhabung und Herstellung und in der Verwendbarkeit üblicher Warburg-Manometer zur direkten Beobachtung der O_2-Zehrung. Unsere Versuchsanordnung hat jedoch den Nachteil, daß durch den fehlenden Füllungsdruck nur ein Teil der Endokardoberfläche zur Respiration ausgenützt wird und daher eine partielle Asphyxie entsteht, doch glauben wir diesen Fehler bei vergleichenden Untersuchungen als annähernd konstante Größe in Kauf nehmen zu dürfen.

Versuchsanordnung.

Untersucht wurden Herzen von Hungerfröschen: Rana esculenta, vereinzelt auch Rana temporaria, in der Zeit von März bis Juli.

Der Ventrikel wurde von den Vorhöfen abgetrennt, in Platinelektroden eingehängt und in die Apparatur eingebracht. Die Reizelektroden (0,2 mm dicke, unten hakenförmig zulaufende Platindrähte in ein Glasröhrchen eingeschmolzen und isoliert) werden durch einen dritten Schliff in das Reaktionsgefäß eingeführt. Zur rhythmischen Reizung verwendeten wir ein von Ther[21] angegebenes Gerät*. Für alle Versuche wurde eine Frequenz von 30 pro Minute verwendet. Die Konstanz der Frequenz wurde mittels eines Lautsprechers kontrolliert, der den Elektroden parallel geschaltet ist.

Nährlösung: Phosphat-Frosch-Ringer mit einem Glukosezusatz von 3‰, pH 7,1. Im Reaktionsgefäß 3 cm^3 Glukose-Phosphat-Ringer, idem im Thermobarometer. Im Absorptionstrog Filterpapierstreifen in 0,2 cm^3 15% NaOH. Atemgas: Luft, Thermostatentemperatur: + 20° C, Versuchsdauer 60 bzw. 120 min, Ablesung alle 20 min.

Nach dem Versuch wird das Herz in Aqua bidest. gespült und 3 Std im Brutschrank bei einer Temperatur von + 120° C getrocknet und auf $^1/_{10}$ mg genau

* Der Firma Meto GmbH. danken wir auch an dieser Stelle für die liebenswürdige Anfertigung und Überlassung dieses Gerätes.

gewogen. Die p_H-Kontrolle mittels der Glaselektrode ergab keine Veränderung des p_H nach dem Versuch.

Schwierigkeiten bereitet bei unserer Versuchsanordnung die Kontrolle der Herztätigkeit, da es nicht möglich ist, während des Versuches das Präparat zu beobachten. Die beabsichtigte gleichzeitige Beobachtung bzw. Registrierung des Aktionsstromes mit einem Kathodenstrahloszillographen konnten wir aus technischen Gründen bei diesen Versuchen noch nicht durchführen. Wir haben deshalb vor und am Ende jedes Versuches die Herztätigkeit außerhalb des Thermostaten beobachtet und auch in einigen Experimenten die Ansprechbarkeit des Froschventrikels auf den Reiz etwa 1 Std außerhalb der Apparatur unter sonst gleichen Versuchsbedingungen direkt kontrolliert. Ohne Strophanthin ließ die anfänglich kräftige Kontraktion der Ventrikel nach etwa 50—60 min — wenn auch unterschiedlich — stark nach.

Versuchsergebnisse.

Leerversuche.

Tabelle 1. *Versuchsreihe mit 13 Einzelversuchen, Versuchsdauer 60 min.*

Versuchsnummer	$QO_2 = mm^3O_2$ / 1 mg Trockengewicht — 60 min	Durchschn. QO_2-Wert aus 13 Versuchen
1	1,32	
2	1,51	
3	1,57	
4	1,12	
5	1,10	
6	1,23	1,31
7	1,13	
8	1,34	
9	1,39	
10	1,42	
11	1,26	
12	1,39	
13	1,18	

Anmerkung zu Tab. 1:

Ein Vergleich unserer experimentellen Größen mit den aus der Literatur[22] bekannten Werten stößt auf Schwierigkeiten, hauptsächlich hervorgerufen durch die Verwendung unterschiedlicher Methodik sowie durch eine auffallend große Streuung der im Schrifttum angegebenen Werte des O_2-Verbrauches, auch wenn sie mit gleicher Methodik ermittelt wurden.

v. Weizsäcker[23] gibt den O_2-Verbrauch des ruhenden und gefüllten Froschventrikels bei 20° C mit 0,065—0,164 mm^3 O_2 pro Gramm Froschherz und Stunde an. Er veranschlagt den Ruhestoffwechsel als nur zu 4—12% des O_2-Verbrauches bei mittlerer Arbeitsleistung. Unter Annahme eines Verhältnisses Trockengewicht zu Feuchtgewicht = 1 : 6 lassen sich aus diesen Daten QO_2-Werte von 0,4—0,98 errechnen. Fukuda und Naito[24] fanden einen O_2-Verbrauch von 13 mm^3 pro 100 mg Froschherz und Stunde, was einem QO_2 von etwa 0,8 entsprechen würde. Clark und White[25] ermittelten — je nach angewandter Methodik — verschiedene Größen, mit denen sich für den Ruhestoffwechsel ein QO_2-Wert von 2,7; 1,8 und 0,78 berechnen läßt. Der O_2-Verbrauch bei Ruhe soll etwa 35% des O_2-Verbrauches bei mittlerer Arbeitsleistung betragen.

Eine besondere Bedeutung für die Bewertung des O_2-Verbrauches kommt dem Füllungszustand des Herzens zu. Clark und White[25] fanden für das leerschlagende, nichtdurchströmte Herz kaum höhere Werte als in Ruhe. Die QO_2-Werte eines mit einer Frequenz von 16 pro Minute schlagenden und nichtdurchströmten Herzens lassen sich mit 0,7 bis etwa 1,8 angeben. Der von uns ermittelte durchschnittliche QO_2-Wert von 1,31 entspricht also ungefähr dem QO_2-Wert des leerschlagenden, nichtgefüllten Herzens, was auch bei unserer Versuchsanordnung zu erwarten ist, bei der der Herzinnenraum nur ungenügend mit Nährlösung bespült wird. Im Gegensatz zu den vorliegenden Angaben in der Literatur[22] zeigen die von uns ermittelten Werte für den O_2-Verbrauch nur eine geringe Streuung.

Weitere Faktoren, die die O_2-Zehrung beeinflussen können, wie die Zusammensetzung der Nährlösung und des Atemgases, Reizfrequenz, Temperatur u. a., sollen in diesem Zusammenhang nicht weiter besprochen werden; jedoch ist anzunehmen, daß bei Verwendung von reinem O_2 als Atemgas auch mit unserer Versuchsanordnung höhere QO_2-Werte zu erzielen sind.

Die von uns angewandte Versuchsmethodik erlaubt demnach mit einfachen Mitteln die Bestimmung des O_2-Verbrauches eines leerschlagenden, nichtdurchströmten Froschventrikels und erschien uns daher zur Überprüfung des Einflusses von Strophanthin und Konvallariaextrakt auf den oxydativen Stoffwechsel des nicht arbeitleistenden Kaltblüterherzens geeignet.

Versuche mit k-Strophanthin.

Versuchsreihe mit 7 Einzelversuchen, Versuchsdauer 120 min. Gleiche Versuchsbedingungen wie vorhergehend beschrieben, jedoch enthält der Glukose-Phosphat-Ringer Strophanthin in einer Endkonzentration von $8 \cdot 10^{-4}\% \approx 10^{-5}$ mol.

Tabelle 2.

Versuchsnummer	QO_2 d. 1. Std d. Versuchsverlaufs	Durchschn. QO_2-Wert d. 1. Std d. Versuchsverlaufs	QO_2 d. 2. Std d. Versuchsverlaufs	Durchschn. QO_2-Wert d. 2. Std d. Versuchsverlaufs
1	0,87		0,98	
2	0,84		0,90	
3	0,75		0,72	
4	0,84	0,82	0,80	0,85
5	0,81		0,81	
6	0,80		0,81	
7	0,80		0,93	

Anmerkung zu Tab. 2:

In der Kontrolle zeigte sich bereits bei der Betrachtung eine durchgreifendere Aktion des an den Elektroden hängenden und sich kontrahierenden Ventrikels. Nach 120 min war die Kontraktion noch kräftiger als nach 60 min ohne Strophanthin. Die Atemwerte stellten sich von Versuchsbeginn an auf ein niedrigeres Niveau ein und blieben über 2 Std konstant.

Unsere Ergebnisse erlauben die Vermutung, daß die Abnahme des O_2-Verbrauches unter Strophanthin kaum die toxisch bedingte Folge einer nachlassenden Kontraktionskraft sein kann, denn bei unseren Versuchen erhielt Strophanthin, in der von uns verwendeten hohen Konzentration ($\approx 10^{-5}$ mol), die Kontraktionen des künstlich gereizten, nur mangelhaft ernährten Froschventrikels aufrecht. Toxisch bedingte Ventrikelkontraktur haben wir in keinem Fall beobachtet.

Kippversuche mit k-Strophanthin.

Versuchsreihe mit 7 Einzelversuchen, Versuchsdauer 120 min.
Strophanthin-Endkonzentration nach Zukippen: $8 \cdot 10^{-5}\% \approx 10^{-6}$ mol.

Tabelle 3.

Versuchsnummer	mm^3 O_2 / 1 mg Trockengewicht 45′–60′ *vor* dem Einkippen	mm^3 O_2 / 1 mg Trockengewicht 60′–75′ *nach* dem Einkippen	QO_2 d. 1. Std (*vor* dem Einkippen)	Durchschn. QO_2-Wert d. 1. Std (*vor* dem Einkippen)	QO_2 d. 2. Std (*nach* dem Einkippen)	Durchschn. QO_2-Wert d. 2. Std (*nach* dem Einkippen)
1	*0,17*	*0,23*	1,03		0,73	
2	*0,20*	*0,31*	1,34		0,80	
3	*0,20*	*0,37*	1,39		0,90	
4	*0,16*	*0,20*	1,42	1,26	0,78	0,78
5	*0,34*	*0,34*	1,39		0,85	
6	*0,28*	*0,42*	1,26		0,85	
7	*0,16*	*0,21*	1,02		0,54	

Anmerkung zu Tab. 3:

Die erste Ablesung (15 min nach Zukippen von Strophanthin) ergab in 6 von 7 Versuchen einen höheren Wert als in der letzten Ablesung vor dem Zukippen. 30 min nach Zukippen fiel der O_2-Verbrauch sodann auf Werte, die den in der vorhergehenden Versuchsreihe mit Strophanthin ermittelten Werten entsprachen und im allgemeinen niedriger lagen als die Ausgangswerte vor dem Zukippen von Strophanthin.

Somit erzielten wir Ergebnisse, die annähernd den Befunden entsprachen, die Wollenberger[26] am Gewebeschnitt aus Meerschweinchenherz mit Ouabain (10^{-6} mol) erheben konnte. Allerdings glauben wir, daß die von uns beobachtete, nur 15—20 min dauernde erhöhte O_2-Aufnahme kaum mehr sein kann als ein passagerer Schädigungseffekt[27].

Versuche mit Konvallariaextrakt.

Versuchsreihe mit 10 Einzelversuchen, Versuchsdauer 120 min.

Gesamtextrakt aus Konvallaria majalis, bestehend aus 20% alkohollöslichem Konvallatoxin und 80% wasserlöslichen Konvallariaglykosiden. 1 g Trockensubstanz = 30000 F.D. Endkonzentration $16\ \gamma \approx 0{,}48$ F.D. pro cm^3 Glukose-Phosphat-Ringer.

Tabelle 4.

Versuchsnummer	QO_2 d. 1. Std d. Vers.-Verlaufs	Durchschn. QO_2-Wert d. 1. Std d. Vers.-Verlaufs	QO_2 d. 2. Std d. Vers.-Verlaufs	Durchschn. QO_2-Wert d. 2. Std d. Vers.-Verlaufs
1	0,75		0,75	
2	0,97		0,76	
3	0,98		0,64	
4	1,10		0,70	
5	1,14	1,01	0,65	0,70
6	1,08		0,73	
7	0,78		0,52	
8	1,08		0,84	
9	1,16		0,63	
10	1,09		0,77	

Anmerkung zu Tab. 4:

Gemeinsam mit Herrn Doz. Dr. H. v. Dobeneck wurde ein hochkonzentrierter Konvallariaextrakt in beschriebener Weise am Froschherzen hinsichtlich seines Einflusses auf den oxydativen Stoffwechsel untersucht und mit Strophanthin verglichen. Die Aktion des sich rhythmisch kontrahierenden Froschventrikels war im Kontrollversuch während der 1. Std durchgreifend und kräftig wie unter Strophanthin. In der 2. Std ließ die Kraft der Kontraktionen etwas nach.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Untersuchungen am rhythmisch gereizten Froschventrikel.

1. Der O_2-Verbrauch eines rhythmisch gereizten, leerschlagenden Froschventrikels wird mittels der manometrischen Methode nach Warburg in 13 Einzelversuchen bestimmt.

2. Mit Strophanthin, Endkonzentration $8 \cdot 10^{-4}\,\% \approx 10^{-5}$ mol, wurde in 7 Einzelversuchen eine Senkung des O_2-Verbrauches um 38% gegenüber den Vergleichswerten der 1. Std, mit Strophanthin, Endkonzentration $8 \cdot 10^{-5}\,\% \approx 10^{-6}$ mol, in 7 Kippversuchen eine Senkung um 38,3% in der 2. Std gegenüber den Vergleichswerten der 1. Std und mit Konvallariaextrakt, Endkonzentration 16 γ $\approx$ 0,48 F.D., pro cm^3 Ringer eine Senkung um 22,2% in der 1. Std des Versuchsverlaufes beobachtet.

3. Konvallariaextrakt (10 Einzelversuche) zeigt im Vergleich zu Strophanthin hinsichtlich der Senkung des O_2-Verbrauches sowie der Verbesserung der Herzaktion einen gleichsinnigen, wenn auch schwächeren Effekt.

Diskussion.

Die in unseren Versuchen ermittelte, auffallend stärkere Beeinflussung der Sauerstoffaufnahme des Papillarmuskels als Ausdruck einer besonderen Strophanthinempfindlichkeit sowie im gleichen Sinne zu verstehende pathologisch-anatomische Befunde lassen die Ursache in Eigenschaften der Zellmembranen vermuten. Für die Annahme eines Angriffes an der Zellmembran spricht einerseits die experimentelle Tatsache, daß ein Einfluß auf die Gewebeatmung durch herzaktive Glykoside nur bei intakter Zellmembran nachgewiesen werden kann[28] und andererseits das unterschiedliche Verhalten des Papillarmuskels selbst. Denn nimmt man eine Stoffwechselreaktion an, so wäre viel eher zu erwarten, daß infolge einer Beeinflussung der Fermente von Atmung und Glykolyse die Atemhemmung sich gleichartig in allen Abschnitten, unabhängig von strukturellen Eigenarten, messend erfassen läßt; man kann wohl kaum annehmen, daß die besondere Strophanthinempfindlichkeit des Papillarmuskels auf einer qualitativen oder quantitativen Besonderheit der Zellatmung und deren Reaktion auf Strophanthin beruhen sollte. Um so weniger, da eigene Versuche am Cytochromoxydase-Cytochrom C-System[29] sowie Untersuchungen anderer Autoren[30, 26] an anderen Fermentsystemen jede Beeinflussung der Atemfermente durch Digitaliskörper vermissen ließen. Möglicherweise eröffnen jedoch Untersuchungen am

Adenosintriphosphatase-System des Herzmuskels neue Möglichkeiten, in das Problem einer Stoffwechselbeeinflussung durch Digitaliskörper einzudringen.

Auf Grund unserer Beobachtungen, vornehmlich des Ruhestoffwechsels, am Herzgewebeschnitt und am gereizten, nicht arbeitenden Froschventrikel im WARBURG sind wir zu dem Schluß gekommen, daß Strophanthin in den von uns verwendeten Konzentrationen den Sauerstoffverbrauch merklich reduziert. In der neueren Literatur sind wohl ebensoviele Befunde — vor allem abhängig von der Dosierung — aufzufinden, die am Warm- und Kaltblüterherzen eine Steigerung, wie auch eine Hemmung des Sauerstoffverbrauchs oder beides in zeitlicher Folge angeben. Die von uns verwendeten, etwas höheren Konzentrationen erscheinen wohl deshalb gerechtfertigt, da wir vor allem eine unterschiedliche Empfindlichkeit einzelner Herzpartien gegen Strophanthin, sowie einen Zusammenhang unserer experimentellen Befunde mit pathologisch-anatomischen Schädigungen und elektrokardiographischen Erscheinungen aufzeigen wollten*. Wir beabsichtigen daher nicht, auf die verwirrende Fülle von Angaben über den Einfluß von Digitaliskörpern auf die Gewebeatmung einzugehen und verweisen diesbezüglich auf die umfassende Publikation von A. WOLLENBERGER[31].

Hingegen sollen unsere Befunde dahingehend diskutiert werden, inwieweit die Annahme berechtigt ist, daß die Digitaliskörper an der Membranstruktur angreifen und so das Sauerstoffdiffusionsvermögen herabsetzen und ob man in diesem Verhalten ein allgemeines Wirkungsprinzip der Digitaliskörper sehen darf.

Die Abnahme der Sauerstoffzehrung ist nicht bedingt durch die erschwerte Permeation von Sauerstoff allein, sondern auch verursacht durch die veränderte Diffusion der organischen und anorganischen Bestandteile aus der das Gewebe umspülenden Nährflüssigkeit in die Zelle. So kommt WOLLENBERGER[26] auf Grund seiner Beobachtungen der unterschiedlichen Verwertung verschiedener exogener Substrate schließlich zu dem gleichen Schluß, daß sowohl Förderung wie Hemmung der Atmung bedingt sind durch eine Änderung der Diffusion infolge einer Reaktion der Digitaliskörper mit der Zelloberfläche. Neuere Untersuchungen von FINKELSTEIN und BODANSKY[32] verweisen wie früher schon POHLE[33] nachdrücklich auf die Beeinflussung der Ionenverteilung an der

* *Anmerkung bei der Korrektur:* MATSUOKA u. SAUNDERS (Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **74**, 879, 1950) fanden am überlebenden, rhythmisch gereizten Ventrikelstreifen des Rattenherzens mit der Methode von CATELL u. GOLD eine 4 Std lang anhaltende positiv inotrope Wirkung von g-Strophanthin bei der hohen Konzentration von 1:40000 ($2{,}5\times10^{-3}$ %) und nur einen geringen Effekt bei 1:200000 (5×10^{-4} %). Noch bei 1:8000 ($1{,}25\times10^{-2}$ %) beobachteten sie eine zwar kurzdauernde, aber starke Wirkung.

Oberfläche der Zelle durch Digitaliskörper. So sollen Digitaliskörper den Sauerstoffverbrauch des Herzgewebes der Katze nur dann steigern, wenn Kalziumionen (0,0008—0,0016 mol) in der Nährlösung vorhanden sind. In Abwesenheit von Kalzium beobachtete Finkelstein bei Zugabe von Scillaglykosiden eine Senkung des Sauerstoffverbrauches[32].

Wahrscheinlich sind gerade die Beziehungen der Digitaliskörper zu den Kalium-, Kalzium- und Magnesium-Ionen entscheidend für das Zustandekommen einer Digitaliswirkung. Verwertet man diese und unter anderem auch die Befunde von Baade[34, 35] — der Erythrocyten in hämolysierenden, strophanthinhaltigen Lösungen osmotisch resistenter fand — zur Deutung unserer experimentellen Ergebnisse, so darf man vielleicht annehmen, daß Strophanthin eine Verfestigung des molekularen Gefüges der Membran hervorrufen kann, wobei dem an den Phosphorlipoiden der Zellmembran gebundenen Kalzium eine besondere Bedeutung zuzukommen scheint[36]. Hieraus resultiert eine Herabsetzung des Diffusionsvermögens, im speziellen eine Abnahme der Sauerstoffzehrung.

Lendle[34] und Weese[37] haben auf Änderungen der kolloidalen Struktur des Protoplasmas durch Digitaliskörper hingewiesen. Neuere Untersuchungen am kontraktilen Protein des Muskels[38, 39] scheinen diese Befunde zu bestätigen, da auch hier die Digitaliskörper wieder an einer Strukturoberfläche — diesmal am Aktomyosin — physikochemisch anzugreifen scheinen und so ihre Wirkungen entfalten.

Daß die Herabsetzung des Sauerstoffdiffusionsvermögens durch Strophanthin durch eine Zustandsänderung der Zelloberfläche verursacht wird, läßt sich auch durch andere Argumente belegen:

So behindern Digitaliskörper den Durchtritt von Brillant-Kongorot durch die Zellmembranen[40]. Einen weiteren Hinweis gibt die Beeinflussung des Aktionsstromes. Am monophasischen Aktionsstrom, der, wenn auch durch einen künstlichen Eingriff erzeugt, ein Bild des Erregungsablaufes an einer bestimmten Stelle der Faseroberfläche vermittelt, verursachen Digitaliskörper eine Verkürzung und Abflachung des Kurvenverlaufes (Plateauverlust). Nun ist dieser Abschnitt der Kurve Ausdruck der Repolarisation der Membran. Die Repolarisation aber ist ein Vorgang, der Energie aus dem oxydativen Stoffwechsel benötigt[41]. Als Folge des herabgesetzten Sauerstoff-Diffusionsvermögens der Zellmembran könnte aber eine Senkung des oxydativen Stoffwechsels den Zustand der Membranpotentiale ändern[42] und so im Ablauf des Aktionsstromes sichtbar werden, denn Sauerstoffmangel verändert den monophasischen Aktionsstrom in gleichem Sinne wie die Digitaliskörper.

Desgleichen besteht aber auch die Möglichkeit, daß beide Vorgänge, sowohl verminderte Sauerstoffdiffusion wie auch Änderungen im Ablauf des Aktionsstromes, auf eine Zustandsänderung der Zellmembran als gemeinsame Ursache zurückgeführt werden können. Den Zusammenhang von Sauerstoffdiffusion — abhängig vom Zustand der Zellmembran — mit den *gleichzeitigen* Änderungen des Aktionsstromes und der Kontraktilität zu klären, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Unsere experimentellen Befunde belegen die Ansicht, daß die größere Digitalisempfindlichkeit des Papillarmuskels (und der Innenschichten) auch die digitalisbedingten Veränderungen des Elektrokardiogramms (ST-T) erklären kann. Daher erscheint die Annahme einer Coronarinsuffizienz als zusätzliche Ursache überflüssig. Die experimentell aufgezeigte auffallende Digitalisempfindlichkeit des Papillarmuskels (und der Innenschichten) wäre aber eine Folge einer nicht näher zu definierenden Eigenart dieser Herzabschnitte selbst.

Inwieweit die Ekg-Veränderungen bereits Ausdruck einer Schädigung dieser Herzpartien sind, ist eine Frage von beträchtlicher klinischer Bedeutung, denn die charakteristische digitalisbedingte ST—T Deformierung läßt sich bereits durch die übliche therapeutische Dosierung hervorrufen. Spang und Korth[43] stellten in Tierversuchen fest, daß der einfachen Senkung von ST keine Herzmuskelnekrosen entsprechen. Suter, Rothlin und Bircher[10] fanden ST—T-Deformierung in der Regel bei morphologisch nachweisbaren Zeichen der Gewebeschädigung, jedoch wurden beide Veränderungen auch unabhängig voneinander beobachtet. Die Tatsache, daß die Ekg-Veränderungen bei voller therapeutischer Wirksamkeit auftreten, spricht nach Auffassung von Spang und Obrecht[44] gegen organische oder funktionelle Herzveränderungen im Sinne einer Katabiose.

Unsere Befunde erlauben wohl die Annahme, daß die Ekg-Veränderungen bereits Ausdruck einer lokalen, funktionellen Alteration der Innenschichten sind, deren Übergang zu morphologisch faßbarer Schädigung jedoch elektrokardiographisch nicht erfaßt werden kann. Eine ähnliche vorsichtige Beurteilung scheint auch Lendle[45] zu vertreten.

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe der manometrischen Methodik nach Warburg wurde

a) der Einfluß von Strophanthin auf den Sauerstoffverbrauch von Gewebeschnitten des Rattenherzens,

b) der Einfluß von Strophanthin und Konvallaria auf den Sauerstoffverbrauch des rhythmisch gereizten Froschventrikels untersucht.

2. Strophanthin, angewandt in einer Endkonzentration von $\approx 10^{-5}$ mol bei der Ratte und $\approx 10^{-5}$—10^{-6} mol beim Frosch, setzt den Sauerstoffverbrauch aller Versuchsobjekte deutlich herab. Prozentual wird der Papillarmuskel des Rattenherzens am stärksten betroffen.

3. Die Senkung des Sauerstoffverbrauchs durch Strophanthin in höherer Konzentration wird als Hemmung der Sauerstoffdiffusion infolge Reaktion der Digitaliskörper mit der Zelloberfläche gedeutet.

4. Die experimentellen Befunde am Rattenherzen werden in Hinblick auf die digitalisbedingten Veränderungen des Kammer-Ekg. diskutiert.

Literatur.

[1] Lewitzky: Dissertation Univ. Petersburg; Ref. Zbl. Path. **16**, 532 (1905). — [2] Hilbing, R.: Arch. Kreislaufforschg. **5**, 292—309 (1939). — [3] Büchner, F.: Klin. Wschr. **12**, 1237 (1933). — Beitr. path. Anat. **92**, 311 (1933/34). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 59 (1934). — [4] Winternitz, M.: Med. Klin. **30**, 1395 (1934). — [5] Hueper u. Ichniowski: J. Labor. a. clin. Med. **26**, 1565 (1941). — [6] Büchner, F.: Beitr. path. Anat. **89**, 644 (1932). — [7] Büchner, F.: Klin. Wschr. **11**, 1737 (1932). — [8] Dietrich, S., u. H. Schwiegk: Z. klin. Med. **125**, 195 (1933). — [9] Korth, C., u. K. Spang: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 349 (1937). — [10] Suter, E., E. Rothlin u. R. Bircher: Helvet. Physiol. Acta **7**, 1 (1949). — [11] Eismayer, G., u. H. Quincke: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **150**, 308—315 (1930). — [12] Gottschalk, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **75**, 33—42 (1914). — [13] David, J. C.: J. of Pharmacol. **40**, 229—234 (1930). — [14] Viktor, J.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **30**, 399—402 (1932). — [15] Jaffe, S. J.: "Unpublished experiments" zit. nach A. Wollenberger[31]. — [16] Mardones, J.: Rev. méd. Chile, zit. nach A. Wollenberger[31]. — [17] Salomon, K., u. O. Riesser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 450—462 (1934). — [18] Nowy, H., u. E. Helmreich: Klin. Wschr. **28**, 21/22, 371 (1950). — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 402 (1951). — [19] Schnitzer, W.: Dissertation, Universität München (1951). — [20] Daffner, L.: Dissertation, Universität München (1951). — [21] Ther, L.: Pflügers Arch. **250**, 171 (1946). — [22] Clark, A. J., u. A. Clark: The metabolism of the frog's heart. Edinburgh 1938 Kap. IV. u.a.O. — [23] Weizsäcker, V. v.: Pflügers Arch. **148**, 535 (1912). — [24] Fukuda, T., u. T. Naito: Proc. Japan. Pharm. Soc. 1927, zit. nach A. J. Clark[22]. — [25] Clark, A. J., u. A. C. White: J. of Physiol. **66**, 185 (1928). — [26] Wollenberger, A.: J. of Pharmacol. **91**, 39 (1947). — [27] Vgl. H. Druckrey, zit. in Mitteilung I[18]. — [28] Weicker, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **178**, 524 (1935). — [29] Helmreich, E.: Biochem. Z. **321**, 144 (1950). — [30] Du Bois, K. P., J. Doull u. E. M. Geiling: Fed. Proc. **8**, 287 (1949). — [31] Wollenberger, A.: J. of Pharmacol. **97**, 311 (1949). — [32] Finkelstein, M., u. O. Bodansky: J. of Pharmacol. **94**, 274 (1948). — [33] Pohle, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **178**, 109 (1935). — [34] Lendle, L.: Heffters Handbuch der exper. Pharmakol., Ergänzungswerk, 1. Bd. S. 146 (1935) (hier auch weitere Literatur). — [35] Baade, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **114**, 136 (1926). — [36] Gordon, H. T., u. J. H. Welch: J. Cell. a. Comp. Physiol. **31**, 395 (1948). — [37] Weese, H.: Digitalis (1936) Leipzig. — [38] Mallov, S., u. J. S. Robb: Fed. Proc. 8, 104 (1949). — [39] Edman, K. A. P.: Experientia Vol. VII. Fasc. 2 (1951). — [40] Ruppert, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 612 (1943). — [41] Schaefer, H.: Elektrophysiologie, Bd. II, Wien (1942). — [42] Höber, R.: Physik. Chem. d. Zellen u. Gewebe, S. 354, Bern 1947 (hier auch weitere Literatur). — [43] Spang, K., u. C. Korth: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **188**, 690 (1938). — [44] Spang, K., u. V. Obrecht: Z. Kreislaufforschg. **38**, 513 (1949). — [45] Lendle, L.: Z. Kreislaufforschg. **39**, 193 (1950).

Dr. Ernst Helmreich, München 2,
Organ.-Chem. Institut der Techn. Hochschule, Walter v. Dyckplatz 1.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 425—428 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut und dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg.

Zur Beeinflussung der Ödemphase der Hühnereiweißentzündung der Ratte durch Ergotamin, Dihydroergotamin (DHE) und Hydergin (CCK).

Von

WILLI RIECHERT und HANS KLEIN.

(Eingegangen am 15. März 1951.)

Durch die Untersuchungen von RIECHERT[1 u. 2] wird die permeabilitätsbehindernde Wirkung des Ergotamins und des DHE im Bereich der Lungen und der Bluthirnschranke diskutiert. Außer dem toxischen Adrenalin-, Cardiazol-, Pikrotoxin- und Veratrinlungenödem an der Ratte und dem Meerschweinchen läßt sich auch unter Vorbehandlung mit Ergotamin das Lungenödem nach doppelseitiger Vagotomie verhindern. Dieser Befund wird als Beweis dafür angesehen, daß der Sympathikus im Bereich der Lungen einen fördernden Einfluß auf die Kapillarpermeabilität im Sinne der Bildung eines Lungenödems ausübt. Auch die Untersuchungen von RUMMEL und DRIESEN[3], sowie von KRAUS[4], GATES und AUER[5] sprechen in diesem Sinne. Die Ergebnisse der Verhinderung des Veratrinlungenödems wurden von HORST[6] auch mit dem Hydergin (CCK) am Kaninchen bestätigt. Pharmaka vom Typ des Ergotamins wirken demnach durch Auslöschen solcher Ödeme hemmend auf den Durchtritt von Plasma im Bereich der Lungen.

Auch die antikonvulsive Wirkung des Ergotamins und seiner dihydrierten Form (DHE) nach Gabe von Analeptika wie Cardiazol, Coramin, Pikrotoxin usw. wird mit einem die Permeabilität behindernden Einfluß dieser Pharmaka an der Blut-liquorschranke erklärt. In Analogie zu diesen Versuchsergebnissen läßt sich auch die Triphenyltetrazoliumchlorid-Intoxikation durch Ergotamin verhindern. Die toxische Wirkung des Triphenyltetrazoliums (TTC) kommt erst nach Eintritt dieser Substanz in das Gehirn unter Rotanfärbung der Hypophyse zum Ausdruck (Bildung von roten Formazankristallen). Durch Ergotamin kann nun sowohl die Anfärbung der Hypophyse als auch die toxische Wirkung des TTC unterbunden werden. Es wird daher angenommen, daß unter dem Einfluß des Ergotamins der Durchtritt von TTC und auch der genannten Analeptika durch die Bluthirnschranke wesentlich gehemmt wird. Auch für das Physostigmin trifft das gleiche zu[7]. Die Untersuchungen mit Prostigmin ergaben den gleichen Befund wie mit dem Physostigmin und es läßt sich daher vermuten, daß die permeabilitätsbehindernde Wirkung des Ergotamins sich auch auf rein periphere Gebiete erstreckt, denn der pharmakologische Angriffspunkt des Prostigmins gegenüber dem Physostigmin ist vorwiegend in der Peripherie zu suchen (DANN[8]).

Mit Absicht wurde aus der großen Zahl der bekannten Formen der lokalen experimentellen Entzündungen zur Beurteilung der Permeabilität die lokale Entzündung der Ratte nach subkutaner Gabe von Hühnereiweiß ausgewählt. Der ursprünglich von Selye[9] beschriebene Ödemtest der Ratte wurde in verschiedenen Untersuchungen[10–12] neben anderen Formen experimenteller lokaler Entzündungen zur Bestimmung Histamin-antagonistischer Substanzen benutzt. Die wechselnden Ergebnisse[11] wurden gewöhnlich auf spezifische Unterschiede der getesteten Substanzen bezogen. Dabei wurden grundsätzliche Unterschiede zwischen den einzelnen experimentellen Entzündungsformen wenig oder nicht beachtet. Untersuchungen über die Kapillarpermeabilität, bestimmt mit der Histaminquaddel am Meerschweinchen, der Senfölchemosis, dem Krotonödem oder mit der Saugmethode nach Zacher[13] sind wegen der Verschiedenheit der Methode kaum miteinander vergleichbar. Ganz besonders trifft dieses für die lokale Entzündung der Ratte nach Gabe von Hühnereiweiß zu.

Nach subkutaner Applikation von 0,1 cm^3 Hühnereiweiß in eine Rattenpfote bei männlichen Tieren von ungefähr dem gleichen Körpergewicht ist vom Zeitpunkt der Injektion eine zunehmende Schwellung zu beobachten, die, wie in Tab. 1 angegeben, nach 120 min ihren Höhepunkt erreicht, nach 240 min merklich nachläßt und nach 300 min wieder völlig verschwindet. Das Ödem bildet sich bei jeder Ratte.

Tabelle 1. *Ödembildung nach Injektion von 0,1 cm^3 Hühnereiweiß in Rattenpfote.*

Nr.	Anzahl der Tiere	Vorbehandlung		Zeit in Minuten				
		Pharmacon	Dosis 100 g Tier mg	30	60	120	240	300
1	24	Kontrolle		+	++	+++	+	—
2	4	Rutinion	12,5	+	++	+++	+	—
	4		25,0	+	++	+++	+	—
3	8	Ergotamin	0,1	+	—	—	—	—
4	8	Dihydro-ergotamin	0,1	+	—	—	—	—
5	8	Hydergin	0,06	+	—	—	—	—

+ bedeutet den Grad des Ödems.

Bei der lokalen Entzündung nach Hühnereiweiß sind 3 Phasen zu beobachten[14]. Histologisch ist die erste Phase durch eine reaktive Hyperämie, übergehend in eine Erythrostase, gekennzeichnet, während die zweite Phase morphologisch als echte seröse Entzündung zu bezeichnen ist. Erst wenn die zweite Phase in der Zeit von 180—240 min zurückgeht, sind zunehmend Leukozyten zu beobachten.

Nach Halpern und Briot[15] sowie Gross[10] sollen verschiedene Histamin-antagonistische Substanzen, ebenso das Adrenalin und Morphin

in wechselndem Maße das Ödem verhindern. Wie weit tatsächlich das Syndrom beeinflußt wird, soll nicht beurteilt werden. Rutinion war, wie aus Tab. 1 hervorgeht, unwirksam. Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang unsere Beobachtung, daß bei der epinephrektomierten Ratte das Ödem stärker ist, außerdem, worauf in einem anderen Zusammenhang näher einzugehen ist, noch 24 Std nach der Hühnereiweißinjektion beobachtet werden kann. Zugleich ist die Schwellung gleichmäßiger als bei nicht epinephrektomierten Ratten, weniger lokal, auch dann nicht, wenn das Eiweiß nur in eine Pfote injiziert wurde.

Nach Ergotamin (1 mg/Tier i. m.), 2 Std vor der Hühnereiweißinjektion angewandt, entwickelt sich nur die durch reaktive Hyperämie gekennzeichnete Phase, während die zweite Periode der Hühnereiweißentzündung praktisch nicht in Erscheinung tritt. Den gleichen Befund konnten wir mit Dihydroergotamin (1 mg/Tier i. m.) und mit Hydergin (0,6 mg/Tier i. m.) erheben. Beide Substanzen wurden ½ Std vor der Hühnereiweißinjektion gegeben. Diese Ergebnisse sind im Vergleich zu den Kontrolluntersuchungen und denen mit Rutinion tabellarisch zusammengefaßt (Tab. 1). Die mit Ergotamin, DHE und CCK vorbehandelten Tiere wurden über 24 Std beobachtet und zeigten auch in dieser Zeit keine Ödembildung.

Diese Ergebnisse sind mehr als eine Bestätigung der Angaben von Ther[16], daß zur Bestimmung der Wirksamkeit Histamin-antagonistischer Substanzen dieser Ödemtest ungeeignet ist. Doch zeigen die Ergebnisse an der epinephrektomierten Ratte, daß nicht nur die zweite Phase des Syndroms, die Ödemphase verlängert ist, sondern daß durch die Vorbehandlung mit Ergotamin, DHE und CCK diese Ödemphase eindeutig unterdrückt werden kann. Bedeutsamer als die vollkommene Hemmung der Reaktion erscheint die phasenspezifische Wirkung in der Periode erhöhter Permeabilität, da diese Periode innerhalb des allergischen Entzündungsphänomens länger als die erste und dritte Phase dauert. So ist die Wirkung dieser sympathikolytisch wirkenden Substanzen eindrucksvoller als die der bisher untersuchten Histamin-antagonistischen und anderen Substanzen.

Zusammenfassung.

1. Die lokale Hühnereiweißentzündung der Ratte, in 3 Phasen ablaufend, ist zur Beurteilung der Permeabilität deshalb geeignet, weil die 2. Phase der Entzündung ausschließlich durch ein seröses Odem gekennzeichnet ist.

2. Durch doppelseitige Epinephrektomie wird die Ödemphase der lokalen Hühnereiweißentzündung bis über 24 Std (normal 4 Std) verlängert.

3. Rutinion (12,5 und 25,0 mg/100 g Tier, s. c. verabreicht), beeinflußt nicht Grad und Verlauf des lokalen Hühnereiweißödems der Ratte.

4. Ergotamin (1 mg/Tier i. m.) und Dihydroergotamin — (DHE) (1 mg/Tier i. m.) sowie Hydergin — (CCK) (0,6 mg/Tier i. m.) löschen die Ödemphase des Hühnereiweißödems der Ratte aus.

Literatur.

[1] Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 321 (1951). — [2] Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [3] Rummel, W. u. Driesen: Dtsch. med. Wschr. 965 (1949). — [4] Kraus, F.: Z. Path. u. Ther. **14**, 402 (1913). — [5] Gates, F. L., u. J. Auer: J. of Pharmacol. **6**, 608 (1914); **9**, 761 (1917). — [6] Horst, H. G., H. Legler u. F. Wegener: Z. exper. Med. **116**, 179 (1950). — [7] Riechert, W.: noch nicht veröffentlichte Versuche. — [8] Dann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 158 (1950). — [9] Selye: Physiology a. Pathology of Exposure to stress, Montreal 1950. — [10] Gross: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 421 (1950). — [11] Wilhelmi, G., u. R. Domenjoz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 125 (1950). — [12] Jacques, R., u. R. Domenjoz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 124 (1950). — [13] Zacher: Acta path. scand. (Kobenh.) **16**, 144 (1939). — [14] Klein, H.: Virchows Arch. **320**, 93. (1951). — [15] Halpern, B. N., u. M. Briot: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 247 (1950). — [16] Ther: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 126 (1950).

Prof. Dr. W. Riechert, Heidelberg, Hauptstr. 47/51, Pharmakol. Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 429—434 (1951).

Aus dem Tuberkulose-Forschungsinstitut Borstel
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Freerksen)
und der I. Medizinischen Abteilung des A. K. St. Georg, Hamburg
(Chefarzt: Prof. Dr. H. W. Bansi).

Zum histochemischen Peroxydasenachweis in der Schilddrüse unter normalen und pathologischen Bedingungen.

Von
Joachim Kracht und Ursula Kracht.

(Eingegangen am 1. April 1951.)

Die Hemmung der biologischen Thyroxinsynthese durch Sulfonamide (MacKenzie und MacKenzie, Astwood, Sullivan, Bissell und Tyslowitz) und Thioharnstoffderivate (Astwood, Richter und Clisby) legte den Gedanken nahe, daß der Wirkungsmechanismus dieser Substanzen im Sinne von Antienzymen in einer Blockade oxydativwirkender Fermente während der ersten oder in beiden Phasen der Hormonbildung zu suchen sei.

Durch Westerfeld und Lowe wurde die Aufmerksamkeit auf die Peroxydase gelenkt und die Möglichkeit diskutiert, daß die Entstehung einer Phenolätherbindung bei der Oxydation von p-Kresol durch Peroxydase ein chemisches Analogon in der Kondensation des Dijodtyrosins zum Thyroxin haben könnte. Eine Beschleunigung der Jodierung von Proteinen durch Wasserstoffperoxyd und Peroxydase in vitro wurde von Keston nachgewiesen; Schachner u. Mitarb. zeigten mit J^{131} als Indikator, daß die in vitro Bildung des Dijodtyrosins und Thyroxins durch Thiouracil und Oxydationsinhibitoren wie Cyanide, Sulfide, Azide und Kohlenmonoxyd gehemmt wird, und schlossen daraus auf eine Hemmung des Cytochrom-Cytochromoxydasesystems, ließen aber die Möglichkeit der Beteiligung anderer Enzyme, wie besonders der Peroxydase offen. Eine in vitro Hemmung der Peroxydase durch Thioharnstoff wurde schließlich von Sumner und Somers beschrieben. Diese Faktoren wiesen sämtlich auf eine Beteiligung von Oxydasen an der physiologischen Hormonbildung bzw. ihre Hemmung unter pathologisch-physiologischen Bedingungen hin.

Die Anwesenheit von Peroxydase in animalischen Geweben wurde infolge ähnlicher Reaktionen anderer Eisenporphyrinverbindungen häufig in Frage gestellt, konnte jedoch für die Milz und Lunge durch Bancroft und Elliot, für das Mark der Nebenniere durch Huszak gesichert werden. Altshul, Abrams und Hogness zeigten mit der „Cytochrom c-Peroxydase", daß der Peroxydase und dem Wasserstoffperoxyd eine größere Rolle im Rahmen biologischer Oxydationen zukommt,

als bisher angenommen. Für die Schilddrüse erbrachte Dempsey mit der Benzidinblausynthese am unfixierten Gefrierschnitt den histochemischen Nachweis und damit die anatomische Basis für eine Peroxydaseaktivität der Follikelepithelzelle. Die Reaktion fiel an Schilddrüsen normaler Ratten sowie an Thiouracilstrumen behandelter Tiere reproduzierbar positiv aus. In vitro zeigte sich jedoch bei Zusatz von Thiouracil zur Wasserstoffperoxyd-Benzidinmischung bis zu einer Verdünnung von 1 : 10000, daß die Bildung blauer Granula im Cytoplasma der Follikelepithelien ausbleibt, während die Färbbarkeit der Erythrozyten erst bei Anwendung höherer Konzentrationen gehemmt wird, was mit ihrem größeren Eisengehalt in Zusammenhang stehen soll.

Die Konsequenz der in vitro gefundenen peroxydasehemmenden Wirkung von Thiouracil war die Entwicklung einer entsprechenden, auf die Hormonbildung angewandten Hypothese, die indessen den positiven Befund benzidinblauer Granula in thiouracilbehandelten Schilddrüsen unberücksichtigt ließ. Die Untersuchungen von Dempsey wurden von de Robertis und Grasso bestätigt und mit dem Ergebnis erweitert, daß durch Mikrosektionstechnik, Supravitalfärbung und am unfixierten Gefrierschnitt durch Benzidin, Nadis Reagenz, o-Phenylendiamin, Guajakol und Pyrogallol eine spezifische Peroxydaseaktivität im Follikelepithel nachweisbar ist, die nicht dem Hämoglobin zukommt. Durch Kälte oder durch thyreotropes Hypophysenhormon (Thyreotropin) aktivierte Schilddrüsen zeigten darüber hinaus einen positiven Ausfall der Reaktion im Kolloid. In vitro fand sich eine Hemmung der Peroxydaseaktivität durch Thioharnstoff bis zu einer Konzentration von 0,001 molar, während Sulfonamidabkömmlinge die Reaktion nicht negativ beeinflußten, sondern eher intensivierten. De Robertis und Grasso zeigten weiter, daß die Ergebnisse des färberischen Peroxydasenachweises in durch Kälte oder thyreotropes Hormon aktivierten Schilddrüsen und unter Thioharnstoff- und Sulfonamideinwirkung mit den Redoxpotentialen in der Weise übereinstimmten, daß die Reaktion bei hohem Potential (+ 0,050 Volt) positiv, bei niedrigem Potential (— 0,200 Volt) negativ ausfiel. In vitro Versuche über die Freisetzung von Jod aus Jodiden in Gegenwart von Thioharnstoff, führten zu der Auffassung, daß die von Peroxydase katalysierte Bildung freien Jods für die Jodierung des Tyrosins zum 3-5-Dijodtyrosin unterbunden wird, daß also der Schwerpunkt der Wirkung enzymblockierender antithyreoidaler Substanzen in der ersten Haringtonschen Phase der Hormonbildung liegt.

In Übereinstimmung zu den Befunden von Dempsey und de Robertis und Grasso fand Glock ebenfalls eine Hemmung der mit H_2O_2 und Pyrogallol angestellten Peroxydasereaktionen in vitro durch Thioharnstoff und Thiouracil. Die Autorin konnte jedoch in frischen Pferdeschilddrüsen nur unbedeutende Mengen reiner Peroxydase nachweisen, deutet die sogenannte Peroxydaseaktivität als unspezifischen Hämoglobineffekt und lehnt eine Antiperoxydaseaktivität antithyreoidaler Substanzen ab. Weitere Einwände machte Randall, dem der Nachweis gelang, daß die Thioverbindungen auch die Farbreaktionen verschiedener Substrate, wie z. B. des Benzidin, Pyrogallol usw. rückgängig machen, d. h. die Farbkomponente zur Leukoverbindung reduzieren.

Eigene Arbeiten zur Histopathologie und Therapie der Schreckthyreotoxikose am frettierten vegetativ labilen Wildkaninchen (Eickhoff) gaben Gelegenheit, als Nebengebiet die diskutierte Fragestellung zu untersuchen. Dabei wurden Schilddrüsen a) normaler Jahreszeitkontrollen, b) erschreckter basedowizierter sowie c) mit Methylthiouracil (MTU), MTU + Jod und Thiothyr behandelter Tiere nach der von

DE ROBERTIS und GRASSO angegebenen Technik aufgearbeitet, nachdem sich die von MCJUNKIN wie RITTER und OLESON für den Paraffinschnitt beschriebenen Methoden als unzureichend erwiesen hatten.

50—100 mμ dicke Gefrierschnitte wurden in eisgekühlter 0,9%iger NaCl-Lösung aufgefangen, zur Intensivierung der Reaktion für 5 min in eine 0,1%ige in physiologischer Kochsalzlösung gelöste Ammoniummolybdatlösung überführt, in physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und in einer gesättigten Benzidinlösung bei Zusatz von 1 Tropfen 20%ige H_2O_2 pro 2 cm³ gefärbt. Eine erste Blautönung des Schnittes war bei allen Versuchsgruppen in der Regel nach 25 bis spätestens 40 sec zu beobachten; nach etwa 2 min war das Maximum der Reaktion in Form einer tiefen Blaufärbung erreicht. Auswaschen in physiologischer Kochsalzlösung. Weiterbehandlung entweder nach Art der Fettfärbung oder Alkoholreihe-Xylol-Balsam.

Mikroskopisch finden sich regional quantitativ unterschiedlich feinste blaue Granula im Cytoplasma des Follikelepithels mit geringer perinukleärer Verdichtung. Braungefärbte eisennegative gröbere Granula als Bestandteile eines physiologisch vorkommenden autochthonen Pigments blieben dabei unberücksichtigt. Die Kerne selbst zeigen eine geringfügige Blautönung, während in den Kapillaren wenig angefärbte Erythrozyten und zuweilen auch tiefblaue Blutzellen zur Darstellung kommen. Schwierigkeiten bei der Beurteilung bereiten im Gegensatz zu den durch Schreck bzw. durch MTU oder Thiothyr aktivierten Schilddrüsen mit hohem Follikelepithel die Ruheschilddrüsen mit endothelartiger bis flachkubischer Auskleidung. Das Ergebnis war in den Follikelzellen beider Gruppen positiv (Tabelle), dagegen wurden im Kolloid nur unter den Schreckkontrollen vereinzelt benzidinpositive Granula beobachtet. Somit ergab sich kein Unterschied zwischen unbehandelten und thiouracilbehandelten Tieren, was um so bemerkenswerter erscheint, als die Untersuchungen von SCHULMANN und KEATING mit in Thioharnstoff eingebautem Radioschwefel (S^{35}) zeigten, daß die relative und absolute Aktivität der Schilddrüse mit 55% weit über allen anderen Organaktivitäten liegt. Dadurch scheint eine starke Affinität und Konzentration des S^{35}/Thioharnstoff und damit auch anderer antithyreoidaler Substanzen zur Schilddrüse gesichert, eine Eigenschaft, die dem S^{35} als Bariumsulfid oder Schwefelsäure fehlt. Auch WILLIAMS konnte mittels chemischer Analysen eine bedeutende Konzentration von Thiouracil in der Schilddrüse aber im Gegensatz zu SCHULMANN und KEATING auch in der Hypophyse nachweisen. Der in vitro Zusatz von Thioharnstoff in verschiedenen molaren Verdünnungen (Tab. 1) ergab ähnlich den Ergebnissen von DE ROBERTIS und GRASSO (0,002 molar) eine Hemmung der Peroxydase bis zu 0,0025 molar für die unbehandelte aktivierte Schilddrüse, für die in vivo mit MTU behandelte Schilddrüse bis zu 0,002 molar, während bei schwächeren Verdünnungen die Reaktion in beiden Gruppen wieder positiv ausfiel.

Ein Ausbleiben der Erythrozytenfärbbarkeit wurde bei den angewandten Konzentrationen nicht beobachtet. Hiermit stehen sich in zwei einfachen Versuchsanordnungen Ergebnisse gegenüber, die unseres Erachtens die Deutung einer Peroxydasehemmung unter in vivo Verhältnissen nicht gestatten. Der Nachweis benzidinpositiver Granula gelingt bei unbehandelten Tieren wie auch am MTU behandelten Wildkaninchen als physiologischem Objekt noch bei einer 20fachen Dosierung des Medikaments im Vergleich zur Therapie der menschlichen Thyreotoxikose, obwohl man nach den Untersuchungen von SCHULMANN und KEATING mit S^{35}/Thioharnstoff den Schluß ziehen darf, daß die Organkonzentration der betreffenden antithyreoidalen Substanz groß genug sein müßte, um eine Fermenthemmung auszulösen.

Tabelle 1. *In vitro Wirkung des Thioharnstoffs auf die Peroxydaseaktivität von Gefrierschnitten der Schilddrüse unbehandelter und MTU-behandelter Wildkaninchen.*

	ohne Zusatz von Thioharnstoff	mol. 0,01	mol. 0,005	mol. 0,0025	mol. 0,002	mol. 0,001	mol. 0,0001
unbehandelt aktiviert . . .	++	—	—	—	+	+	++
MTU-behandelt .	++	—	—	—	—	+	++

Das gleichartige Verhalten un- wie vorbehandelter Tiere bei in vitro Zusatz von Thioharnstoff läßt ebenfalls an einen anderen Wirkungsmechanismus denken. Insbesondere sei zur Kritik der Schlußfolgerungen von DEMPSEY bemerkt, daß eine Peroxydasehemmung unter unphysiologischen Bedingungen in vitro noch nichts über die Verhältnisse im lebenden Organismus auszusagen braucht, zumal wir selbst in Versuchen mit Meerrettichoxydase nach KEILIN-MANN und entsprechenden Farbreaktionen mit einem Zink-Leukofuchsin und Pyrogallol geneigt waren, eine spezifische peroxydasehemmende Wirkung von MTU anzunehmen.

In gleicher Weise zeigte RANDALL an 35 Thioharnstoffderivaten bei kolorimetrischer Messung der durch p-Aminobenzoesäure mit Meerrettichperoxydase und H_2O_2 entstehenden roten Farbe (Paba-rot) eine Peroxydasehemmung, die sich jedoch als eine scheinbare erwies. RANDALL fand einmal, daß unter den geprüften Substanzen nur unregelmäßige Beziehungen zwischen Antiperoxydaseaktivität und antithyreoidaler Potenz bestehen, wie z. B. bei Cystein, Glutathion und Natriumsulfid, die schilddrüsenunwirksam sind, aber hohe peroxydasehemmende Eigenschaften besitzen. Er konnte in Übereinstimmung mit ELLIOT weiterhin feststellen, daß Sulfhydryl- und Thioverbindungen reduzierend auf Farbreaktionen des Benzidin, Guajakol, o-Phenylendiamin und p-Aminobenzoesäure mit Peroxydase und H_2O_2 wirken. Während Thioharnstoff und o-Phenetylthioharnstoff Paba-rot nicht reduzieren, werden Benzidinblau und 2-6-Dichlorphenolindophenol von allen Thioverbindungen entfärbt, womit auch die Hemmung der Benzidinblaureaktion im Schilddrüsenschnitt unter den genannten Bedingungen in ursächlichem Zusammenhang stehen dürfte. Diese chemischen Vorgänge kommen neben anderen Komponenten auch in Veränderungen des Redoxpotentials zum Ausdruck, so daß

die angedeuteten Befunde von DE ROBERTIS und GRASSO sich hiermit durchaus in Übereinstimmung befinden. Zur Frage des Wirkungsmechanismus der Thioverbindungen mit Peroxydase und H_2O_2 wurde durch RANDALL mit der WARBURG-Apparatur nachgewiesen, daß eine Peroxydasehemmung nicht vorliegt. Vielmehr kommt es zu einer meßbaren Reaktion zwischen Thiolen und H_2O_2, die durch Peroxydase beschleunigt wird, woraus hervorgeht, daß die Thioverbindungen Substrate für das Peroxyd-Peroxydasesystem darstellen. Während theoretisch 2 Mole Thioharnstoff mit 1 Mol H_2O_2 zu einem Disulfid reagieren könnten, zeigen RANDALLS Untersuchungen, daß mehr als 2 Mole H_2O_2 von 1 Mol der Thioverbindung reduziert, und damit die Thioabkömmlinge über die Disulfidreihe hinaus oxydiert werden.

Der Wirkungsmechanismus wäre also in der Weise vorstellbar, daß antithyreoidale Substanzen als Reduktionsmittel und Substrate in den Peroxyd-Peroxydasekomplex eingreifen, mit anderen Substraten konkurrieren oder sie verdrängen und so die Farbreaktionen des Peroxydasesystems hemmen, andererseits aber H_2O_2 reduzieren und es als Reagens aus dem Peroxydasesystem beseitigen. Sollte sich die Annahme einer intrazellulären Entstehung von H_2O_2 aus Flavoproteinsystemen (KESTON) oder Oxydasesystemen (RANDALL) bestätigen, ergäbe sich die Hypothese einer unmittelbaren Reduktion des H_2O_2 durch die schilddrüsenwirksamen Substanzen, deren Reduktionsfähigkeit damit zu einem chemischen Charakteristikum in der Hemmung der Thyroxinsynthese wird. In Erweiterung dieser Gedanken ist auch vorstellbar, daß die Thioverbindungen das anorganische Jodid vom Enzym-Peroxydkomplex verdrängen und die peroxydativ katalysierte Oxydation des Jodids zum elementaren Jod und dessen Anlagerung an den Phenolring des Tyrosins verhindern. Die Beteiligung von Enzymsystemen wird also nicht in Abrede gestellt, sondern für wahrscheinlich gehalten, da es sich offenbar um ein von vielen Faktoren abhängiges Geschehen handelt, in dem wir den chemischen Eigenschaften der Thioharnstoffabkömmlinge einen gewissen Schwerpunkt beimessen. Von KESTON wurde die Bedeutung der Xanthinoxydase bei der biologischen Jodierung und ihre Hemmung durch Thioharnstoff hervorgehoben, was jedoch von GLOCK angezweifelt wird, zumal dieses Ferment wie die Polyphenoloxydase in der Pferdeschilddrüse nicht nachgewiesen werden konnte. Eine Hemmung der Tyrosinaseaktivität durch Phenylthioharnstoff beschrieben BERNHEIM und BERNHEIM, während für die Cytochrom c-Peroxydase Untersuchungen unseres Wissens noch nicht vorliegen. Eine Beteiligung der Cytochromoxydase gilt nach den Untersuchungen von DEMPSEY als unwahrscheinlich.

Damit sei angedeutet, daß sichere Aussagen über den Wirkungsmechanismus antithyreoidaler Substanzen noch nicht gemacht werden können. Unsere eigenen Untersuchungen veranlassen uns zu einer kritischen Einstellung der gedanklichen Übertragung von in vitro Befunden auf physiologische Verhältnisse. Wir kommen deshalb in

Übereinstimmung mit Randall zu einer Ablehnung der von Dempsey angewandten Methodik und der daraus geschlossenen Theorie einer direkten Hemmung der Peroxydase in der Schilddrüse.

Zusammenfassung.

Der Nachweis benzidinpositiver Granula im Follikelepithel aktivierter unbehandelter und MTU-behandelter Wildkaninchenschilddrüsen und ihre Hemmung durch in vitro Zusatz von Thioharnstoff in molaren Verdünnungen stehen in Widerspruch zu der von Dempsey aufgestellten Theorie einer Peroxydasehemmung antithyreoidaler Substanzen. Es wird gezeigt, daß die in vitro Hemmung eine scheinbare ist, da Thioverbindungen als Substrate im Sinne eines Verdrängungsmechanismus in das Peroxyd-Peroxydasesystem eingreifen und durch ihre reduzierenden Fähigkeiten Farbreaktionen des Peroxydasesystems hemmen.

Literatur.

Altschul, A. M., R. Abrams u. T. R. Hogness: J. of biol. Chem. **136**, 777 (1940). — Astwood, E. B., J. Sullivan, A. Bissell u. A. Tyslowitz: Endocrinology **32**, 210 (1943). — Bancroft, G., u. K. A. C. Elliot: Biochem. J. **23**, 1911 (1934). — Bernheim, F., u. M. L. C. Bernheim: J. of biol. Chem. **142**, 213 (1942). — Dempsey, E. W.: Endocrinology **34**, 27 (1944). — Annals of the New York Academy of Sciences **50**, 336 (1949). — de Robertis, E., u. R. Grasso: Endocrinology **38**, 137 (1946). — de Robertis, E.: Annals of the New York Academy of Sciences **50**, 317 (1949). — Eickhoff, W.: Schilddrüse u. Basedow, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1949. — Elliot, K. A. C., u. D. Kellin: Proc. Roy. Soc., B. **114**, 210 (1934). — Glock, E. G.: Nature (Lond.) **154**, 460 (1944). — Harington, C. R.: J. Chem. Soc. Lond. 193 (1944). — Huszak: Biochem. Z. **321**, 330 (1942). — Johnson, T. B., u. L. B. Tewkesbury: Jr. Proc. Nat. Acad. Sc. **28**, 73 (1942). — Keston, A. J.: J. of biol. Chem. **153**, 335 (1944). — McJunkin: in D. Glick: Techniques of Histo- and Cytochemistry. New York-London: Interscience Publishers 1949. — Mac Kenzie, C. G., u. J. B. MacKenzie: Endocrinology **32**, 188 (1943). — Randall, L. O.: J. of biol. Chem. **164**, 512 (1946). — Richter, C. P., u. K. H. Clisby: Arch. of Path. **33**, 46 (1942). — Ritter, H. B., u. J. J. Oleson: Arch. of Path. **43**, 330 (1947). — Schachner, H., A. L. Franklin u. I. L. Chaikoff: J. of biol. Chem. **151**, 191 (1943). — Schulman, John jr., u. R. Keating: J. of biol. Chem. **183**, 215 (1950). — Sumner, J. B., u. G. F. Somers: New York: Academic Press 1943. — Westerfeld, W. W., u. C. Lowe: J. of biol. Chem. **145**, 463 (1942). — Williams, R. H., G. A. Kay u. B. Jandorf: J. clin. Invest. **23**, 613 (1944). — Williams, R. H., u. G. A. Kay: Arch. int. Med. **80**, 37 (1947).

Dr. J. Kracht, Borstel über Bad Oldesloe, Tuberkulose-Forschungsinstitut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213 S. 435—452 (1951).

Aus der Universitäts-Kinderklinik Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. Peiper).

Kann man dem Clearance-Begriff einen solchen der „Entrance" gegenüberstellen?

Von
F. H. Dost.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Januar 1951.)

I. Theoretische Grundlagen.

Van Slyke[1] hat den Begriff der renalen Clearance in die Physiologie und praktische Pharmakodynamik eingeführt. Nach der allgemeinen Beziehung:

$$\text{Clearance} = \frac{Vol_U \cdot K_U}{y}, \tag{1}$$

wo y die Konzentration des untersuchten Stoffes im Plasma („Plasmaspiegel"), K_U seine Konzentration im Urin und Vol_U das Urinvolumen bedeuten, ergibt sich die Clearance vorläufig als dasjenige Plasmavolumen, das durch die Ausscheidungstätigkeit der Nieren während der Urinsammelperiode von seinem augenblicklichen Gehalt an untersuchtem Stoff völlig befreit wird. Nach allgemeiner Übereinkunft bezieht man sich bei allen endgültigen Clearance-Angaben auf die Zeiteinheit einer Minute. Das Clearance-Verfahren ist in den letzten Jahren zu großer Vollkommenheit ausgebaut worden, und man verfügt daher heute über verschiedene Möglichkeiten, die renale Clearance eines Stoffes nach einmaliger Injektion oder während einer Dauertropfinfusion zu bestimmen. Auf Einzelheiten der Methodik braucht hier nicht eingegangen zu werden.

1. Betrachtungen zum Begriff der totalen Clearance.

Dem Begriff der *renalen* Clearance habe ich[2] denjenigen der *totalen* Clearance gegenübergestellt und gezeigt, welche Möglichkeiten sich zur experimentellen Ermittlung der letzteren bieten. Diese leiten sich grundsätzlich aus einer mathematischen Zergliederung der Plasmaspiegelkurve des zu untersuchenden Stoffes unter Bezugnahme auf die Plasmaspiegelkurve des Inulins und die Inulin-Clearance am gleichen Individuum ab. Im Gegensatz zur renalen Clearance vermittelt die totale Clearance einen zahlenmäßigen Ausdruck dafür, welches Plasmavolumen in der Minute durch das *gesamte, d. h. exkretorische und*

chemisch-physikalische Eliminationsvermögen des Organismus von seinem augenblicklichen Gehalt an untersuchtem Stoff befreit wird. Da hiervon die renale Elimination nur einen Teil darstellt, kann die totale Clearance niemals kleiner als die renale sein. Nur im Grenzfall kann es vorkommen, daß beide Clearances gleich werden, dann nämlich, wenn der betrachtete Stoff ausschließlich auf renalem Wege ausgeschieden wird, andere Ausscheidungsvorgänge hierneben keine Rolle spielen, und auch eine chemische Elimination nicht stattfindet.

Die Ermittlung der totalen Clearance ist im Gegensatz zur renalen Clearance bisher nur möglich, wenn der untersuchte Stoff exponential eliminiert wird, mit anderen Worten: wenn seine Plasma- oder Blutspiegelkurve nach intravenöser Injektion und *nach Ausgleich des initialen Diffusionsgefälles* zwischen Blut und extravasalem Flüssigkeitsraum entsprechend einer einfachen *e*-Funktion abfällt.

Diese Voraussetzung wird von einer unerwartet großen Zahl der verschiedensten Stoffe erfüllt, wenn gewisse Vorbedingungen vor und während des Versuches eingehalten werden. So konnte ich, [2, 3] im Versuch am Menschen zeigen, daß zahlreiche, therapeutisch verwendete Sulfonamide exponential eliminiert werden, außerdem das Aneurin, das Inulin und, bei genügend kleinen Blutspiegeln, auch der Aethylalkohol*. Für folgende weiteren Stoffe ist die exponentiale Entfernung aus dem Organismus gleichfalls sichergestellt: Aceton[4], Avertin[5], Diäthyläther[6], Urethan, Bromural, Veronal, Luminal, Somnifen, Dial und Neodorm[7], Bilirubin[8], Harnstoff[9], Harnsäure[10], Kreatinin[11], Penicillin G[12], Streptomycin[13], Wasser (beim Volhardschen Wasserstoß)[14], schließlich die Farbstoffe Evans-Blue[15], Wasserblau-3 B-Kahlbaum und Anilinblau-2 B-Merck[16]. Überschaut man die genannten Stoffe**, so muß es als bemerkenswert bezeichnet werden, daß das Exponentialgesetz stets erfüllt wird, gleichgültig, welcher Art im Einzelfall das Schicksal des betreffenden Stoffes im Organismus auch sein mag, ob also z. B. der verabreichte Stoff als solcher, d. h. unverändert wieder ausgeschieden wird, ob die Ausscheidung erst nach chemischer Veränderung stattfindet, ob sich die Elimination überhaupt nur auf den chemischen Abbau beschränkt, oder ob schließlich eine Kombination bzw. eine Konkurrenz der verschiedenen Eliminationsmöglichkeiten vorliegt.***Eine biologisch durchaus annehmbare Erklärung für dieses Verhalten ist möglich[17], jedoch würde eine nähere Auseinandersetzung hierüber das Thema, das ich mir für diesen Aufsatz gestellt habe, verlassen. Ich möchte mich hier darauf beschränken, die Bedeutung des Exponentialgesetzes für das Eliminationsgeschehen durch die Erwähnung zu unterstreichen, daß selbst für das Diphtherie-Antitoxin (nach passiver Immunisierung) ein exponentiales Absinken des Serumtiters nachgewiesen worden

---

* Bei höheren Blutspiegeln, wie sie in der forensischen Praxis interessieren, erfolgt beim Menschen allerdings eine lineare Elimination (Widmark[20]), während z. B. der Hund auch größere Alkoholmengen exponential eliminiert (Haggard und Greenberg[21]).

** Für körpereigene Stoffe gilt die exponentiale Elimination natürlich nur nach Zuführung von außen, wobei als Ausgangswert der Blut- oder Plasmaspiegel vor der Belastung zu gelten hat.

*** *Zusatz bei der Korrektur:* Herrn Prof. Ernst Frey verdanke ich die Mitteilung, wonach Michaelis und Maas (Biochem. Z. **4**, 542; **5**, 1 (1907) schon früher darauf hingewiesen haben, daß auch die Borsäure-Elimination dem Gesetz der e-Funktion folgt.

ist[18, 19], einen Stoff, über dessen Schicksal, Umsetzung oder Neutralisation im Organismus man so gut wie nichts weiß!

Wenn das Absinken der Blut- bzw. Plasmaspiegelkurve eines Stoffes nach intravenöser Injektion und nach Erreichen des Diffusionsgleichgewichtes zwischen Blut und Gewebe entsprechend einer e-Funktion vor sich geht, so kann man dies in der Gleichung:

$$y_{II} = a\, e^{-k_2 t} \tag{2}$$

zum Ausdruck bringen, wo y_{II} den Blut- bzw. Plasmaspiegel zu jeder beliebigen Zeit t bedeutet, und a den Blut- bzw. Plasmaspiegel darstellt, der sich ergeben würde, wenn die Gesamtmenge des verabreichten Stoffes unmittelbar nach beendigter intravenöser Injektion bereits im Diffusionsgleichgewicht zwischen Blut und Gewebe stünde. Die Geschwindigkeit des Eliminationsvorganges wird dann durch die Eliminationskonstante k_2 bestimmt; die Zeitrechnung kann mit dem Wert $t = 0$ zu jedem beliebigen Augenblick nach Ausgleich des anfänglichen Diffusionsgefälles zwischen Blut und Gewebe begonnen werden.

Ausgehend von dem Umstand, daß sowohl der Eliminationskonstanten k_2 als auch dem Clearance-Begriff im absoluten Maßsystem die Dimension einer reziproken Zeit zuerteilt werden kann, habe ich in einer ausführlichen mathematischen Darlegung bewiesen[2], daß die totale Clearance eines Stoffes und seine Eliminationskonstante k_2 durch die einfache Beziehung:

$$\text{Clearance}_{tot} = \frac{k_2 \cdot \text{Vol}}{\text{const.}} \tag{3}$$

miteinander verbunden sind, wo Vol das Verteilungsvolumen des betrachteten Stoffes im Gesamtorganismus* darstellt. Da sich die Eliminationskonstante k_2 für jeden exponential eliminierten Stoff auf Grund mehrerer Plasmaspiegelbestimmungen einfach ermitteln läßt, und im gleichen Versuchsgang auch die Feststellung des Verteilungsvolumens *Vol* vorgenommen werden kann, erschließt Gleichung (3) eine Möglichkeit zur experimentellen Ermittlung der totalen Clearance des betreffenden Stoffes, vorausgesetzt, daß die im Nenner auftretende Konstante *const.* eliminiert werden kann. Dies gelingt ohne weiteres, wenn man die Clearance eines zweiten Stoffes, der nur renal eliminiert wird (dessen renale Clearance also gleich seiner totalen Clearance ist), nach dem VAN SLYKEschen Verfahren ermittelt, und außerdem seine Eliminations-

* Der Ausdruck „Verteilungsvolumen" wird neuerdings bevorzugt (SEKULA[22], FISHER et al.[23]). Das gleiche meint WIDMARK[24], wenn er von einem „individuellen Faktor" spricht, „mit dem das Körpergewicht zu reduzieren ist, damit man die gedachte Körpermasse erhält, die überall die gleiche (Alkohol-)Konzentration wie das Blut aufweist." DOMINGUEZ[25] spricht sinngemäß von „äquivalentem Plasmavolumen", TEORELL[26] von äquivalentem Blutvolumen" und DRUCKREY und KÜPFMÜLLER[27] bevorzugen den Ausdruck „fiktives Volumen".

konstante k_2 und sein Verteilungsvolumen bestimmt. Als derartigen Vergleichsstoff wählt man mit Vorteil das Inulin, dessen Verteilung und Elimination von allen, außschließlich glomerulär filtrierten Stoffen am besten[28] untersucht ist.

Durch Division zweier entsprechender Ausdrücke der Gleichung (3) verschwindet die Konstante *const.*, so daß für die gesuchte totale Clearance eines beliebigen Stoffes (S):

$$\text{Clearance}_{\text{tot}\,(S)} = \frac{k_{2(S)} \cdot \text{Vol}_{(S)} \cdot \text{Clearance}_{(\text{Inulin})}}{k_{2(\text{Inulin})} \cdot \text{Vol}_{(\text{Inulin})}} \qquad (4)$$

folgt.

2. *Erklärung des Entrance-Begriffes.*

Wenn es somit möglich ist, beim Eliminationsvorgang die Geschwindigkeitskonstante k_2 mittels Gleichung (3) aus ihrer abstrakten Form in den mehr sinnfälligen Begriff der totalen Clearance zu überführen, so geht hieraus gleichzeitig hervor, daß ein entsprechendes Gedankenexperiment grundsätzlich auch auf den Resorptions- und Verteilungsvorgang eines Stoffes, d. h. auf seine Invasion, Anwendung finden kann. Dies würde allerdings voraussetzen, daß der Invasionsprozeß ebenfalls einem Exponentialgesetz folgt. Hierzu liegen im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Elimination noch nicht so umfangreiche Untersuchungen vor, da es in Hinblick auf den Umstand, daß die Invasionskurve in jedem Augenblick ihrer Messung durch die sofort einsetzende Elimination des verabreichten Stoffes deformiert wird, außerordentlich schwierig ist, im Einzelfall zu einer quantitativen Beurteilung der Invasion zu gelangen.

Immerhin: für einige, schnell diffundierende Stoffe, deren Schicksal im Organismus sich zudem sehr genau verfolgen läßt, ist der experimentelle Beweis für die Gültigkeit des Exponentialgesetzes auch bei der Invasion tatsächlich erbracht worden, und zwar für Äthylalkohol[29, 30], Diäthyläther, Methan und Stickstoff[31] sowie für das Wasser[14]. Aber auch unabhängig von derartigen Versuchsergebnissen wurde und wird der exponentiale Verlauf des Invasionsvorganges von allen Autoren, die sich unseres Wissens mit dieser Frage beschäftigt haben[26, 27, 32, 33], als feststehend vorausgesetzt. Die Tatsache, daß die mechanischen, physiologisch-chemischen und biologischen Elementarvorgänge sowohl bei der Invasion eines gelösten Stoffes als auch bei seiner Elimination nicht grundsätzlich voneinander verschieden sind, legt überdies die Annahme nahe, daß — wiederum sowohl für die Invasion als auch für die Elimination — die quantitative Umsetzung des einverleibten Stoffes nach dem gleichen, jeweils natürlich entgegenlaufenden Gesetz am Blut- bzw. Plasmaspiegel ablesbar sein muß. Ein abweichendes Verhalten ist unseres Erachtens nur für den besonderen Fall denkbar, daß die Invasion eines Stoffes durch natürliche oder künstlich herbeigeführte Resorptionshemmung im Sinne einer Depotwirkung verzögert wird.

Unter diesen Voraussetzungen können wir also für das Ansteigen der Blut- bzw. Plasmaspiegelkurve während der Resorption und Ver-

teilung des verabreichten Stoffes eine der Gleichung (2) entgegenlaufende e-Funktion schreiben. Wir erhalten:

$$y_I = a\,(1 - e^{-k_1 t}), \tag{5}$$

wo nunmehr k_1 die Invasionskonstante und y_I den Blut- bzw. Plasmaspiegel zu jeder beliebigen Zeit t nach Verabreichung des Stoffes darstellen. Hieraus folgt aber unmittelbar, entsprechend Gleichung (3), für die Entrance des untersuchten Stoffes:

$$\text{Entrance} = \frac{k_1 \cdot \text{Vol}}{\text{const.}}. \tag{6}$$

Da das Verteilungsvolumen Vol und die unbekannte Konstante im Nenner unter sonst gleichen Bedingungen für den gleichen Stoff ebenfalls untereinander gleich sein müssen, ergibt sich durch Division von Gleichung (3) und (6):

$$\frac{\text{Entrance}}{\text{Clearance}_{tot}} = \frac{k_1}{k_2} \text{ oder: } \text{Entrance} = \xi \cdot \text{Clearance}_{tot}, \tag{7a, b}$$

wenn man zur rechnerischen Vereinfachung [siehe auch Gleichung (14a, b) sowie die Ausführungen auf Seite 445, Absatz c] $k_1/k_2 = \xi$ setzt.

Entsprechend der Clearance-Definition, die sich ihrerseits nur auf den Eliminationsvorgang bezieht, das Resorptions- bzw. Invasionsgeschehen jedoch unberücksichtigt läßt, *haben wir unter der Entrance eines Stoffes dasjenige Plasmavolumen in Kubikzentimetern zu verstehen, das während der Invasion jeweils in der Zeiteinheit einer Minute von seinem augenblicklichen Gehalt an untersuchtem Stoff auf denjenigen Spiegel gebracht wird, den das gesamte Plasma nach Abschluß des Invasionsvorganges, d. h. nach beendigter Resorption und Verteilung, aufweisen würde* (unter der Annahme, daß eine Elimination nicht stattfände).

Die Wahl des englischen Wortes „Entrance" erschien uns naheliegend, weil die analoge Bezeichnung, d. h. der Begriff der Clearance, in Physiologie und Medizin über die ursprüngliche Wortbedeutung hinaus den Wert einer wissenschaftlichen Definition erlangt hat, deren Übertragung in andere Sprachen nur mit einer nachträglichen Verarmung an Präzision und Sachbeziehung verbunden sein würde.

3. Die Beziehungen zwischen Plasmaspiegel und Entrance.

Aus den bisherigen Ausführungen geht hervor, daß der Weg zur Ermittlung der Entrance eines Stoffes über die Feststellung seiner totalen Clearance führt. Die experimentelle Bestimmung der in Gleichung (4) und (7b) einzusetzenden Werte bedeutet keinerlei neuartige Aufgabe mit Ausnahme der Invasionskonstanten k_1, für deren Ermittlung bisher kein brauchbares Verfahren angegeben worden ist. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß es am unversehrten Organismus nicht möglich ist, reine Invasionskurven durch Plasmaspiegelbestimmungen zu gewinnen, da in jedem Fall unmittelbar nach begonnener

Invasion des einverleibten Stoffes bereits dessen Elimination einsetzt. Im Gegensatz hierzu kann man bekanntlich beim Studium der Elimination die Störung durch den Invasionsvorgang einfach dadurch ausschalten, daß man die Plasmaspiegelkurve im Anschluß an eine intravenöse Injektion schreibt.

Mit Hilfe einer mathematischen Analyse der Plasmaspiegelkurve nach beliebiger, aber nichtintravenöser Darreichung eröffnet sich jedoch eine, im Ergebnis recht einfache Möglichkeit zur experimentellen Ermittlung der Invasionskonstanten k_1. Hierzu gehen wir von der Voraussetzung aus, daß die Invasion (Abb. 1, Kurve J) ein Ansteigen des Plasmaspiegels nach Gleichung (5) und die Elimination (Abb. 1, Kurve E) gleichzeitig ein Absinken nach Gleichung (2) bewirkt.

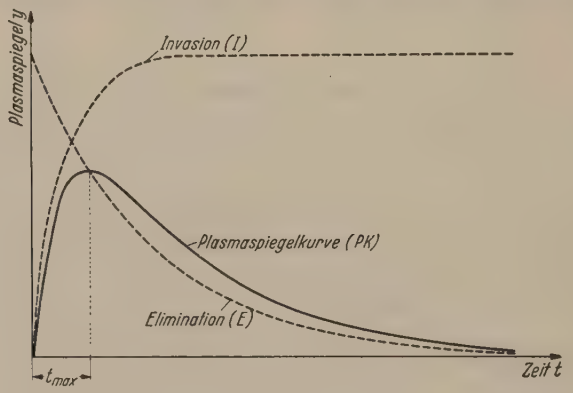


Abb. 1.

Es erhebt sich zunächst die Frage nach dem Verlauf der wirklichen Plasmaspiegelkurve (Abb. 1, Kurve PK) und der mathematischen Funktion, wie sie sich aus der Kombination beider Vorgänge ergibt. Es ist ohne weiteres einzusehen, daß sich die Steigung bzw. das Gefälle dieser gesuchten Kurve ergibt, wenn man in jedem Zeitdifferential dt das Gefälle der Kurve E von der Steigung der Kurve J in Abzug bringt. Hieraus folgt, daß der Differentialquotient der wirklichen Plasmaspiegelkurve (Kurve PK) gleich der Summe der Differentialquotienten beider Einzelkurven sein muß. Wenn y der wirkliche Plasmaspiegel, der resultierenden Kurve ist, so gilt zunächst: $y = y_{\text{I}} = y_{\text{II}}$, und wir können schreiben:

$$\frac{dy}{dt} = a\, k_1 e^{-k_1 t} - k_2 y. \tag{8}$$

Diese inhomogene Differentialgleichung kann man am einfachsten nach der Methode von Lagrange* lösen. Ihr Integral muß nach den obigen

* Josèphe Lagrange, 1736—1813.

Ausführungen die Funktion für die gesuchte, wirkliche Plasmaspiegelkurve PK sein. Wir führen also Gleichung (8) zunächst in das allgemeine Integral:

$$y = C_1 e^{-k_2 t} + C_2 e^{-k_1 t} \tag{9}$$

über, wo C_1 und C_2 noch näher zu bestimmen sind, so daß sie Gleichung (8) erfüllen. Differentiieren von Gleichung (9) ergibt:

$$\frac{dy}{dt} = -k_2 C_1 e^{-k_2 t} - k_1 C_2 e^{-k_1 t}. \tag{10}$$

Gehen wir nunmehr mit Gleichung (10) und (9) in Gleichung (8), so folgt:

$$-k_2 C_1 e^{-k_2 t} - k_1 C_2 e^{-k_1 t} = a k_1 e^{-k_1 t} - C_1 k_2 e^{-k_2 t} - k_2 C_2 e^{-k_1 t}$$

oder:

$$(C_1 k_2 - C_1 k_2) e^{-k_2 t} = (k_1 C_2 + a k_1 - k_2 C_2) e^{-k_1 t}. \tag{11}$$

Da Gleichung (11) für alle Werte von t bestehen soll, müssen die Klammerausdrücke auf beiden Seiten gleich Null sein.
Aus $k_1 C_2 + a k_1 - k_2 C_2 = 0$ folgt:

$$C_2 = \frac{a k_1}{k_2 - k_1}.$$

Die allgemeine Lösung der Differentialgleichung Gleichung (8) erhält man durch Einsetzen von C_2 in Gleichung (9), mithin:

$$y = C_1 e^{-k_2 t} + \frac{a k_1}{k_2 - k_1} e^{-k_1 t}. \tag{12}$$

C_1 kann jetzt als Integrationskonstante aufgefaßt werden, die durch Einsetzen der Bedingung, daß zur Zeit $t = 0$, also zu Beginn des Versuchs, der Plasmaspiegel y gleichfalls den Wert Null haben soll, eliminiert wird; dadurch wird aus Gleichung (12):

$$0 = C_1 + \frac{a k_1}{k_2 - k_1} \text{ oder : } C_1 = -\frac{a k_1}{k_2 - k_1}.$$

Einsetzen von C_1 in Gleichung (12) ergibt schließlich für die Plasmaspiegelkurve bei gleichzeitiger Invasion und Elimination eines Stoffes, d. h. nach jeder beliebigen, aber nichtintravenösen Verabreichung:

$$y = \frac{a k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}), \tag{13}$$

siehe Abbildung 1, Kurve PK.

In der Literatur findet man statt Gl. (13) auch sehr viel kompliziertere Funktionen[26, 27], deren hoher Verwicklungsgrad in erster Linie auf den Umstand zurückzuführen ist, daß die entsprechenden mathematischen Ansätze gleichzeitig auch auf solche Stoffe Bezug nehmen, die verhältnismäßig langsam diffundieren und außerdem zur Kumulation neigen. Hierdurch wird zwangsläufig die Einführung einiger neuer Symbole notwendig, denen allerdings nur formale Bedeutung zukommt, da sie dem Experiment nicht zugänglich sind. Wir können diese Formeln hier außer acht lassen, da es sich bei den Verbindungen, deren Clearances von praktischer Bedeutung sind, ohnehin um verhältnismäßig schnell diffundierende und

nicht zur Kumulation neigende Stoffe handelt. Dies trifft besonders auch für die Sulfonamide und das Penicillin zu. Eine Ausnahme ist unseres Wissens nur für das rote Prontosil bekannt, das bis zu einem gewissen Grad gespeichert werden kann[34].

Die Funktion Gleichung (13) hat in der Natur überall dort Geltung, wo zwei zueinander gegensinnig verlaufende e-Funktionen sich zu einem gemeinsamen Vorgang verbinden, wie es z. B. auch bei der gleichzeitigen Entstehung und Zersetzung eines radioaktiven Stoffes geschieht[35]. Aus Abbildung 1 ist zu entnehmen, daß die zugehörige Kurve nach verhältnismäßig schnellem Anstieg einem Maximum zustrebt, nach dessen Erreichen sie, im Vergleich zur reinen Eliminationskurve etwas verzögert, asymptotisch wieder gegen die Null-Linie absinkt.

Da der Zeitpunkt t_{max} des Maximums von der Größe der verabreichten Dosis unabhängig ist[3], [26], [32], muß sich durch experimentelle Feststellung des Kurvenmaximums ein besonders einfacher Weg zur Ermittlung der Invasionskonstanten k_1 ergeben. Die Plasmaspiegelkurve verläuft im Maximum für sehr kurze Zeit waagerecht (Abbildung 1, Kurve PK), so daß t_{max} genau definiert ist, wenn man den Differentialquotienten der Gleichung (13) gleich Null setzt:

$$\frac{dy}{dt} = 0 = -\frac{x\, k_1^2}{k_2 - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{a\, k_1 k_2}{k_2 - k_1} e^{-k_2 t},$$

kürzt:

$$k_1 e^{-k_1 t} = k_2 e^{-k_2 t}$$

und nach t auflöst. Man erhält somit für den Zeitpunkt des Kurvenmaximums:

$$t = t_{max} = \frac{1}{k_2 - k_1} ln \frac{k_1}{k_2} \quad \text{und weiter} \quad k_2 t_{max} = \frac{1}{\xi - 1} ln\, \xi, \qquad (14a, b)$$

wo $\xi = k_1/k_2$.

Da sich die Eliminationskonstante k_2 nach intravenöser Verabreichung des verwendeten Stoffes in einem vorhergehenden Versuch ohne weiteres nach Gleichung (2) ermitteln läßt, und t_{max} in einem zweiten Versuch bestimmt werden kann, in welchem der gleiche Stoff dem gleichen Individuum auf dem Wege der Resorption angeboten wird, folgt nach Einsetzen dieser beiden Werte in Gleichung (14) unmittelbar auch derjenige der Invasionskonstanten k_1, die nunmehr nach Gleichung (7b) leicht in einen Entrance-Wert überführt werden kann.

II. Die praktische Durchführung der Entrance-Bestimmung.

Die immerhin etwas komplizierten Ableitungen der Gleichungen (4), (7b) und (14) vermitteln in ihrem Ergebnis doch eine recht einfache Anweisung zur experimentellen Bestimmung der Entrance eines zu unter-

suchenden Stoffes. Es sind hierzu insgesamt 3 Einzelversuche notwendig, die jeweils verbunden sind mit einer:

1. intravenösen Injektion des zu untersuchenden Stoffes,

2. intravenösen Inulin-Injektion,

3. beliebigen, nichtintravenösen Verabreichung des zu untersuchenden Stoffes, für welche die Entrance bestimmt werden soll.

Sämtliche 3 Versuche sind am gleichen Individuum durchzuführen. Versuch 1 dient zur Feststellung des Verteilungsvolumens *Vol* des zu untersuchenden Stoffes *S* und seiner Eliminationskonstanten k_2. Durch Versuch 2 erhält man das Verteilungsvolumen und die Eliminationskonstante des Inulins, außerdem die Inulin-Clearance. Die erhaltenen 5 Werte werden in Gleichung (4) eingesetzt, wodurch man die totale Clearance des Stoffes *S* erhält. Versuch 3 ermöglicht die Feststellung von t_{max}. Nach Einsetzen dieses Wertes und der aus dem 1. Versuch bekannten Eliminationskonstanten k_2 des untersuchten Stoffes *S* in Gleichung (14b) bekommt man den Wert ξ. Das Produkt aus ξ und der totalen Clearance ergibt schließlich die gesuchte Entrance des Stoffes *S*.

Während wir zur Bestimmung der Inulin-Clearance auf das einschlägige Schrifttum verweisen können, geben wir in Folgendem einige Anweisungen für die Ermittlung:

a) der Eliminationskonstanten k_2,

b) des Verteilungsvolumens *Vol*,

c) des Quotienten ξ.

Zu a): Die Methode zur Ermittlung der Eliminationskonstanten k_2 beruht auf dem Prinzip, anschließend an die intravenöse Injektion des zu untersuchenden Stoffes oder des Inulins nach Ablauf der Zeiten $t_{1,2,3} \ldots$ dessen Plasmaspiegelwerte $y_{1,2,3} \ldots$ zu bestimmen und die erhaltenen Werte in die Eliminationsgleichung Gleichung (2) einzusetzen, welche zu diesem Zweck nach k_2 aufgelöst wird:

$$k_2 = \frac{1}{t} \, ln \, \frac{a}{y} . \qquad (15)$$

Praktisch geht man am besten so vor, daß man die erhaltenen Plasmaspiegelwerte in ein halblogarithmisches Raster einträgt (s. Abbildung 2), um sich zunächst davon zu überzeugen, ob man tatsächlich einen Stoff vor sich hat, der exponential eliminiert wird. Dies erkennt man zutreffenden Falles daran, daß die Plasmaspiegelkurve nach Beendigung des anfänglichen Abdiffundierens vom Blut in die Gewebe einen geradlinigen Verlauf annimmt (Abbildung 2). Man halte sich an eine mittlere Dosierung, da große Mengen den exponentialen Abfall der Kurve empfindlich stören können. Die rechnerische Auswertung der Plasmaspiegelkurve kann frühestens dann begonnen werden, wenn

sich die Kurve bei logarithmischer Ordinatenteilung im geradlinig verlaufenden Abschnitt befindet. Dem ersten dieser Plasmaspiegelwerte (Abbildung 2, Punkt *I*), der auf die Gerade zu liegen kommt, ordnet man die Zeit $t_0 = 0$ und die Ausgangshöhe a' zu, den folgenden Punkten (Abbildung 2, Punkte *II*, *III*, *IV* . . .) die Zeiten $t_{1,\,2,\,3}$ . . . und die Spiegel $y_{1,\,2,\,3}$ . . ., wie sich aus Abbildung 2 ergibt. Die Werte für t und y können nun unmittelbar in Gleichung (15) eingesetzt werden, und statt a können wir den festgestellten Wert von a' in Gleichung (15) einführen. Auf diese Weise folgt rechnerisch jedesmal k_2, und dessen endgültiger Wert aus dem arithmetischen Mittel der Einzelergebnisse.

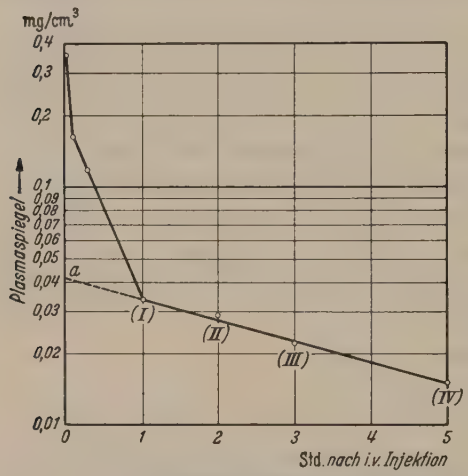


Abb. 2. ——— Plasmaspiegelkurve des Badionals nach i. v. Verabreichung. - - - - - Extrapolation zur Ermittlung des Verteilungsvolumens des Badionals.

Zu b): In unseren ersten Untersuchungen[2] haben wir uns noch auf die formale Einführung des Verteilungsvolumens beschränkt, da uns seinerzeit keine Möglichkeit zu bestehen schien, diesen Begriff auch für die praktische Auswertung der Versuchsergebnisse zu übernehmen. Im Zuge der Vertiefung der Clearance-Methodik haben wir inzwischen jedoch auch eine *rechnerische Berücksichtigung des Verteilungsvolumens* angestrebt. Hierbei zeigte sich, daß zu diesem Zweck nicht einmal ein zusätzlicher Versuch notwendig ist. Für unsere Belange genügt es, da alle Clearance-Bestimmungen auf Plasmaspiegel-Werte Bezug nehmen, zur Ermittlung des Verteilungsvolumens eines verabreichten Stoffes von dessen Plasmaspiegel- und nicht von der Blutspiegelkurve auszugehen.

Die Bestimmung der Verteilungsvolumina des Inulins und des zu untersuchenden Stoffes kann also in dem gleichen Versuchsgang vorgenommen werden, der auch zur Feststellung der Eliminationskonstanten k_2 dient. Wir knüpfen am einfachsten wieder an Abbildung 2 an, aus der sich ohne weiteres ergibt, daß man durch graphisches (oder rechnerisches) Extrapolieren des im halblogarithmischen Raster geradlinig abfallenden Kurventeiles bis zur Ordinate einen gedachten Plasmaspiegelwert a erhält, der sich ergeben würde, wenn der einverleibte Stoff bereits vor dem Einsetzen der Elimination, d. h. unmittelbar nach beendigter intravenöser Injektion, im Diffusionsgleichgewicht zwischen Blut und Gewebe stehen würde, sein Verteilungsvolumen also schon zur

Zeit $t = 0$ erfüllt hätte. Drückt man nun die verabreichte Dosis in Milligramm aus und den durch Extrapolation gewonnenen Plasmaspiegel a im Milligramm pro Kubikzentimeter, so ergibt der Quotient:

$$\frac{\text{Dosis [mg]}}{a\ [\text{mg/cm}^3]}$$

das absolute Volumen in Kubikzentimetern an, auf welches sich der verabreichte Stoff nach erreichtem Diffusionsgleichgewicht zwischen Plasma und übrigem Organismus verteilt. Dividiert man diesen Ausdruck durch das Körpergewicht p der Versuchsperson (in Gramm), so erhält man das relative Verteilungsvolumen des Stoffes im Gesamtorganismus, das man nach Multiplikation mit der Zahl 100 in Prozent ausdrücken kann. Es hat sich jedoch eingeführt[22], [24], [36], das relative Verteilungsvolumen in Kubikzentimetern pro Gramm-Masse des Gesamtorganismus anzugeben, entsprechend dem Ausdruck:

$$\text{Vol (cm}^3\text{/g)} = \frac{\text{Dosis [mg]}}{a\ [\text{mg/cm}^3] \cdot p\ [\text{g}]}\ ^{*)}. \qquad (16)$$

Ein Volumenwert von 0,5 besagt also, daß, bezogen auf den Plasmaspiegel, in der Masseneinheit von 1 g des Gesamtorganismus durchschnittlich der Rauminhalt von 0,5 cm³ durch den verabreichten Stoff erfüllt wird, oder einfacher: daß sich der Stoff durchschnittlich auf 50% des Körpervolumens verteilt.

Daß es sich bei dem Begriff des Verteilungsvolumens um eine Fiktion handelt, erkennt man besonders deutlich, wenn man gelegentlich auch Ergebnisse bekommt, die den Wert Eins übersteigen (s. später). Ein solcher Befund würde ja besagen, daß sich der betrachtete Stoff auf ein Volumen ausbreitet, welches dasjenige des gesamten Körpers übertrifft, ein Umstand, der in Wirklichkeit natürlich nicht vorstellbar ist. In solchen Fällen hat sich vielmehr das verabreichte Medikament derart verteilt, daß sein Spiegel im Plasma niedriger ist als im übrigen Organismus, d. h. der *Verteilungsquotient* des verabreichten Stoffes zwischen Gewebe und Plasma ist > 1. Da allen Clearance-Vorstellungen jedoch ausdrücklich Volumina zugrundeliegen, dürfen wir selbstverständlich zu unseren Berechnungen niemals den konkreten, im übrigen aber dimensionslosen Begriff des Verteilungsquotienten verwenden, *sondern müssen den virtuellen Begriff des Verteilungsvolumens heranziehen.*

Zu c): Zur Ermittlung des Quotienten ξ eines Stoffes ist jetzt nur mehr die Kenntnis der Zeit t_{max} notwendig, die vom Augenblick der beliebigen, aber nichtintravenösen Verabreichung (Versuch 3) bis zum Erreichen des maximalen Plasmaspiegels vergeht (s. Abbildung 1). t_{max} kann nach derjenigen Applikationsweise, für welche die Entrance eines Stoffes geprüft werden soll (subkutan, intramuskulär, enteral) an Hand genügend häufig wiederholter Plasmaspiegelbestimmungen

* Da das tatsächliche Volumen des Gesamtorganismus bekanntlich nicht mit genügender Genauigkeit festgestellt werden kann, begnügt man sich für praktische Zwecke damit, das Verteilungsvolumen nicht auf das wirkliche Körpervolumen zu beziehen, sondern auf die Gewichtseinheit. Hierbei wird vorausgesetzt, daß das durchschnittliche spezifische Gewicht des Gesamtorganismus gleich 1 ist. Auch für unsere Untersuchungen kann diese Vernachlässigung als erlaubt gelten, da der hierdurch entstehende Fehler ganz unerheblich ist.

unmittelbar festgestellt werden. So bereitet es z. B. bei den Sulfonamiden und beim Penicillin keine Schwierigkeit, im Abstand von 2 min Proben von Kapillarblut zur mikrochemischen oder -biologischen Untersuchung zu entnehmen. Den auf diese Weise festgestellten Wert von t_{max} setzt man nunmehr in Gleichung (14b) ein, ebenso den aus Versuch 1 bekannten Wert für die Eliminationskonstante k_2 des betreffenden Stoffes. Somit verbleibt ξ als einzige Unbekannte, die sich jetzt auf ganz gewöhnlichem Wege aus Gleichung (14b) ermitteln ließe, wenn diese nach ξ auflösbar wäre. Dies ist jedoch nicht der Fall, weil Gleichung (14b) transzendent ist. Aus diesem Grund haben wir die Funktion tabuliert, so daß man sich der im Anhang beigegebenen Tafel bedienen muß, um nach Aufsuchen der experimentell ermittelten Werte des Produktes $k_2 t_{max}$ sofort mit genügender Genauigkeit die zugehörigen ξ-Werte entnehmen zu können.

1. Beispiel für Entrance-Bestimmungen.

Gesunder Erwachsener; Körpergewicht: 66,7 kg; Körpergröße: 174 cm. Körperoberfläche nach der Formel von DU BOIS[37]:

$$\text{Oberfläche}\,[\text{cm}^2] = 167{,}2 \cdot \sqrt{\text{Körpergewicht}\ [\text{kg}]} \cdot \sqrt{\text{Körpergröße}\ [\text{cm}]}$$

folgt nach Einsetzen der Werte zu 1,80 m^2.

Inulin-Clearance nach der Methode von SPÜHLER[28], bezogen auf die durchschnittliche Oberfläche des Menschen von 1,73 m^2:

$$115\ cm^3/min.$$

Versuchsstoff: Badional-Bayer (4-Aminobenzolsulfothiocarbamid).

Versuch 1. In einem ersten Versuch wurden 4,37 g Badional-Natrium, entsprechend 4 g Badional, intravenös zur Bestimmung von k_2 und zur Ermittlung des Verteilungsvolumens verabreicht. Die zugehörige Plasmaspiegelkurve zeigt Abbildung 2.

Die Punkte (*I*) bis (*IV*) werden mit den Ordinatenwerten a', $y_{1,2,3}$ und den Abszissenwerten t_0 bis t_3 in Gleichung (15) eingesetzt und ergeben für die Eliminationskonstante k_2 des Badionals einen mittleren Wert von $3{,}5 \cdot 10^{-3}\ min^{-1}$. Der extrapolierte Plasmaspiegelwert a zur Zeit $t = 0$ folgt aus Abbildung 2 zu 0,041 mg/cm^3. Einsetzen dieses Wertes, des Körpergewichtes (66700 g) und der Dosis (4000 mg) in Gleichung (16) ergibt für das Verteilungsvolumen des Badionals, bezogen auf seine Konzentration im Plasma, einen Wert von $1{,}46\ cm^3/g$.

Versuch 2. In der gleichen Weise wurde für das Inulin eine Eliminationskonstante k_2 von $1{,}9 \cdot 10^{-2}\ min^{-1}$ sowie ein Verteilungsvolumen von $0{,}17\ cm^3/g$ ermittelt.

Durch Einsetzen der erhaltenen Werte (kursivgedruckt) in Gleichung (4) erhält man für die totale Clearance des Badionals, bezogen auf 1,73 m^2 Körperoberfläche:

$$\text{Clearance}_{\text{tot}_{(\text{Badional})}} = 182 \text{ cm}^3/\text{min}.$$

Versuch 3. Nach völliger Elimination des intravenös verabreichten Badionals erfolgte zur Ermittlung von t_{max} eine zweite Badionalverabreichung um die Entrance bei enteraler Resorption am gleichen Individuum zu ermitteln. Um einwandfreie Resorptionsbedingungen zu schaffen, wurde die Badional-Lösung nicht peroral eingegeben, sondern durch eine Sonde unmittelbar in das Duodenum der nüchternen Versuchsperson eingeführt (4,37 g Badional-Natrium in 250 cm^3 körperwarmem Leitungswasser). Das Maximum des Plasmaspiegels stellte sich 55 min nach beendigter Eingießung ein. Der Wert von $k_2 t_{max}$ ergibt sich also aus dem Produkt: $55 \cdot 3{,}5 \cdot 10^{-3} = 0{,}192$, und aus der beigefügten Tafel (s. Anhang) folgt für ξ der Zahlenwert 15,1. Da die totale Clearance des Badionals bei der gleichen Versuchsperson 182 cm^3/min gewesen war, erhält man schließlich für die Entrance des Badionals bei intraduodenaler Verabreichung durch Einsetzen in (Gleichung 7b):

$$\textit{Entrance}_{\text{Badional (enteral)}} = \textit{15,1} \cdot \textit{182} = \textit{2750 cm}^3\textit{/min}.$$

Versuchsstoff: Debenal M-Bayer (2-[4'-Aminobenzolsulfonamido]-4-methyl-pyrimidin).

Nach der gleichen Methodik, d. h. nach intraduodenaler Verabreichung von 4,34 g des Natriumsalzes (entsprechend 4 g Debenal M) in 250 cm^3 Wasser, fanden wir für diesen Stoff einen t_{max}-Wert von 45 min, was bei einer Eliminationskonstanten von $6{,}33 \cdot 10^{-4}$ min^{-1} und einer totalen Clearance des Debenals M von 16,3 cm^3/min eine enterale Entrance von 3130 cm^3/min ergibt.

Gaben wir das Debenal M-Natrium jedoch intramuskulär (2,17 g in 10 cm^3 sterilem Wasser, entsprechend 2 g Debenal M), so stellte sich das Maximum des Plasmaspiegels erst nach 135 min ein. Hieraus folgt, für die gleiche Person, deren enterale Debenal M-Entrance zu 3130 cm^3/min ermittelt worden war, eine muskuläre Entrance des Debenals M von nur 740 cm^3/min!

2. Erörterung der Versuchsergebnisse.

Von den Verhältnissen bei der Elimination eines Stoffes unterscheidet sich die Geschwindigkeit beim Invasionsvorgang durch die ihr innewohnenden Variationsmöglichkeiten, da bekanntlich eine große Zahl verschiedener Umstände denkbar sind, die auf die Spielarten der Resorption entscheidenden Einfluß ausüben. Abhängig von Bedingungen, die zum Teil vom Experimentator beherrscht werden können, zum Teil

aber auch seinem Einfluß nicht unterliegen oder gar seiner Kontrolle entgehen, kann daher sowohl die Entrance als auch die Invasionskonstante k_1 des gleichen Stoffes in verschiedenen Versuchen verschieden sein. Es liegt auf der Hand, daß die Entrance in erster Linie von der Applikationsart und von der Menge des Lösungsmittels abhängig ist.

Des weiteren leuchtet ein, daß durchaus nicht jede beliebige Verabreichungsweise zur Entrance-Bestimmung geeignet sein muß. Hauptsächlich muß man sein

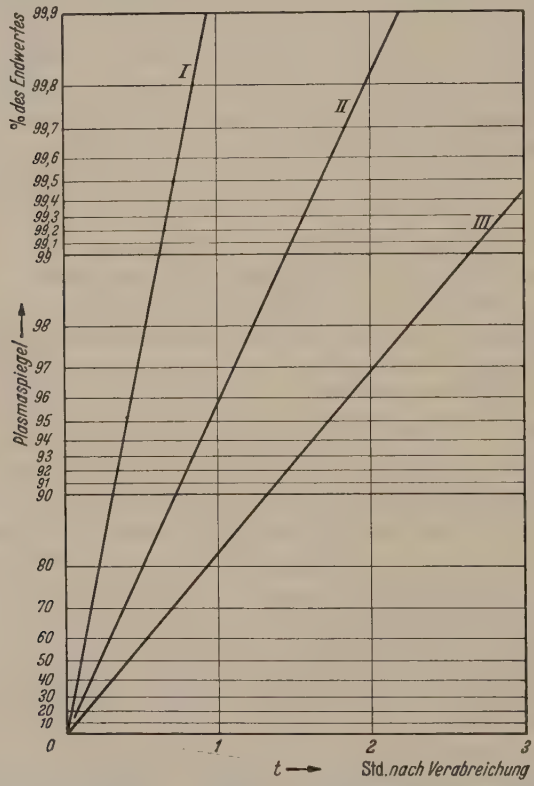


Abb. 3. Invasionskurven (Plasma) von Debenal M (I) und Badional (II) nach einmaliger intraduodenaler und von Debenal M (III) nach einmaliger intramuskulärer Verabreichung der Natriumsalze. Der Endpunkt der Ordinate mit dem höchsten erreichbaren Wert von 100% liegt im Unendlichen und entspricht demjenigen Plasmaspiegel, der sich im Diffusionsgleichgewicht zwischen Plasma, Erythrozyten und extravasalem Flüssigkeitsraum bei Ausschaltung der Elimination einstellen würde, wenn die Resorption beendigt ist. Invasionskonstanten: Kurve I: $k_1 = 0{,}121\ \text{min}^{-1}$, Kurve II: $k_1 = 0{,}053\ \text{min}^{-1}$, Kurve III: $k_1 = 0{,}029\ \text{min}^{-1}$.

Augenmerk darauf richten, unkontrollierbare Störungen der Resorption von seiten des Verdauungskanals auszuschalten. Die einfache, perorale Verabreichung scheidet daher überhaupt aus, weil die Verweildauer im Magen und die verzögerte und schubweise Entleerung durch den Pyloruskanal in das resorptionsfähige Darmvolumen den Versuch empfindlich stören würden. Entsprechendes gilt auch für Verzögerungseffekte infolge schlechter Löslichkeit des verabreichten Stoffes, ob solche Wirkungen

nun beabsichtigt sind oder nicht. Sulfonamide dürfen daher nur in Form ihrer gutlöslichen Alkalisalze verabreicht werden. Um reproduzierbare Voraussetzungen zu schaffen, empfiehlt es sich, die Versuche unter den Bedingungen des Grundumsatzes und der Grunddiurese durchzuführen.

Daß es sich bei der Entrance um ein fiktives Plasmavolumen handelt, welches in Wirklichkeit nicht in Erscheinung tritt, wurde bereits gesagt. Sie unterscheidet sich hierdurch in keiner Beziehung von der Clearance. Eine renale Clearance von z. B. 150 cm^3/min besagt ja nicht, daß tatsächlich dieses Plasmavolumen in der Minute von seinem Gehalt an betrachtetem Stoff völlig befreit würde, sondern lediglich, daß das gesamte, in der Minute die Niere durchströmende Plasma (also etwa 700 cm^3) gerade um so viel geklärt wird, wie in 150 cm^3 Plasma an gedachtem Stoff durchschnittlich vorhanden sind. Bei der entrancemäßigen Betrachtungsweise trifft genau das nämliche, nur in umgekehrtem Sinne zu. Es wäre daher abwegig, wenn man annehmen wollte, im Kapillargebiet des verhältnismäßig beschränkten Darmabschnittes, in welchem sich bei unserem Versuch das Debenal M nach der Sondierung befand, würden nun tatsächlich mehr als 3 l Plasma, das sind etwa 5 l Blut, in jeder Minute gerade so viel Debenal M aufnehmen, wie es demjenigen Spiegel entsprechen würde, den das gesamte Plasma nach Abschluß der Invasion erreicht haben würde. Den tatsächlichen Verlauf des Vorganges muß man sich vielmehr derart vorstellen, daß beim Durchfluß durch das Resorptionsgebiet in Wirklichkeit ein wesentlich kleineres Plasmavolumen einen sehr viel höheren Debenal M-Spiegel erwirbt, der sich anschließend innerhalb kürzester Zeit durch Vermischung mit dem Gesamtplasma und der extravasalen Flüssigkeit äußerst stark verringert.

Ermittelt man statt der Entrance durch Multiplikation des aus der Tafel zu entnehmenden ξ-Wertes mit der Eliminationskonstanten k_2 die Invasionskonstante k_1, so kann man die Invasion des Plasmas durch den Versuchsstoff auch kurvenmäßig in reiner Form, d. h. ungestört durch die in Wirklichkeit stattfindende gleichzeitige Elimination, zur Abbildung bringen, wofür bisher am intakten Organismus keine Möglichkeit bestanden hat. Man erhält dann im umgekehrten halblogarithmischen Netz geradlinige Kurven, wie in Abb. 3 aus den experimentell gewonnenen Daten der drei geschilderten Versuche dargestellt.

Zusammenfassung.

1. Der renalen Clearance wird als umfassenderer Begriff die totale Clearance gegenübergestellt, die nicht nur auf das renale, sondern auf das gesamte Eliminationsvermögen des Organismus Bezug nimmt.

2. Es wird gezeigt, wie sich aus dem Begriff der totalen Clearance auch für den Invasionsprozeß ein entsprechender Ausdruck entwickeln läßt, der als Entrance bezeichnet wird.

3. An Versuchsbeispielen wird die experimentelle Ermittlung der totalen Clearance für verschiedene Stoffe und der Entrance außerdem bei verschiedenen Verabreichungsweisen mitgeteilt.

Literatur.

[1] van Slyke, D. D., zit. nach H. W. Smith: The physiology of the kidney. New York 1939. — [2] Dost, F. H.: Klin. Wschr. **27**, 257 (1949). — [3] Dost, F. H.: Verh.-Bericht Kinderärztetagung Leipzig (1950). — [4] Widmark, E. M. P.: Biochemic. J. **14**, 379 (1920). — Acta med. scand. (Stockh.) **52**, 87 (1919). — [5] Lendle, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **167**, 590 (1932). — [6] Henderson, Y.: Brit. med. J. **1926**/I, 41. — [7] Pinkhof, J.: 15. Journée de physiol., Leiden, 14. 12. 1929. — Arch. néerld. Physiol. **15**, 475 (1930). — Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1930**/I, 2189. — [8] von Bergmann, G.: Klin. Wschr. **5**, 776 (1927). — [9] Rehberg, P. B.: Biochemic. J. **20**, 461 (1926). — [10] Wilhelmij, Ch. M., and S. L. Moskowitz: Amer. J. Physiol. **102**, 620 (1932). — [11] Dominguez, R., and E. Pomerene: J. of biol. Chem. **104**, 449 (1934). — Dominguez, R., H. Goldblatt and E. Pomerene: J. of biol. Chem. **114**, 240 (1935/36). — [12] Andersen, W. H., and R. Brodersen: J. clin. Invest. **28**, 821 (1949). — Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 1949, S. 639. — [13] Cathie, I. A. B.: Post-Graduate med. J. 1948 (July). — [14] Ther, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 376 (1948). — [15] Evans jr., W. A., and J. G. Gibson II: Amer. J. Physiol. **118**, 251 (1937). — [16] Hemingway, A., F. H. Scott and H. N. Wright: Amer. J. Physiol. **112**, 56 (1935). — [17] Dost, F. H.: Allgemeine Systematik der Blutspiegelkurven. In Vorbereitung. — [18] Glenny, A. T., and B. E. Hopkins: J. of Hyg. **22**, 12, 37 (1923). — [19] Madsen, E.: Acta path. scand. (Københ.) **13**, 103 (1936). — [20] Widmark, E. M. P.: Les lois cardinales de la distribution et du metabolisme de l'alcool ethylique dans l'organisme humain. Kungl. Fysiografica Sällskapets Handlingar. N. F. **41**, Nr. 9. — Biochem. Z. **267**, 135 (1933); **270**, 297 (1934). — [21] Haggard, W. R., and L. A. Greenberg: J. of Pharmacol. **52**, 172 (1934). — [22] Sekula, M.: Z. klin. Med. **142**, 221 (1943). — [23] Fisher, H. H., L. Troast, A. Waterhouse and J. A. Shannon: J. of Pharmacol. **79**, 373 (1943). — [24] Widmark, E. M. P.: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Berlin-Wien 1932. — Biochem. Z. **270**, 297 (1934). — [25] Dominguez, R.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **31**, 1146 (1934). — [26] Teorell, T.: Arch. internat. Pharmacodynam. **57**, 205, 226 (1937). — [27] Druckrey, H., u. K. Küpfmüller: Dosis und Wirkung. Die Pharmazie, 1. Erg.-Band, Beiheft 8. Berlin 1949. — [28] Spühler, O.: Dtsch. Arch. klin. Med. **190**, 20 (1943). — [29] Haggard, W. R., and L. A. Greenberg: J. of Pharmacol. **52**, 167 (1934). — [30] Biehler, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **107**, 20 (1925). — [31] Henderson, Y., and W. R. Haggard: Amer. J. Physiol. **73**, 194 (1925). — [32] Gehlen, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 541 (1933). — [33] Jacobs, M. H.: Erg. Biol. **12**, 1 (1935). — [34] Bennhold, H., in: Bennhold, H., E. Kylin u. St. Ruszniak: Die Eiweißkörper des Blutplasmas. Dresden und Leipzig (1938). — [35] Rutherford, E.: Radioactive substances and their relations. Cambridge 1913. — [36] Litchfield, J. T., in: Northey, E. H.: The Sulfonamides and allied compounds. New York 1948. — [37] Du Bois, E. F.: Basal metabolisme in health and disease. Philadelphia 1927.

Dozent Dr. med. habil. F. H. Dost, Berlin NW 7, Schumannstr. 20/21, Kinderklinik der Charité.

Tafel der Funktion $k_2\, t_{max} = \frac{1}{\xi - 1} \ln \xi$

ξ	$k_2\, t_{max}$	Differenz	ξ	$k_2\, t_{max}$	Differenz
0	∞		3,6	0,493	
0,01	4,652	660	3,7	0,485	8
0,02	3,992	377	3,8	0,477	8
0,03	3,615	262	3,9	0,469	8
0,04	3,353	200	4,0	0,462	7
0,05	3,153	173	4,1	0,455	7
0,06	2,980	121	4,2	0,448	7
0,07	2,859	114	4,3	0,442	6
0,08	2,745	99	4,4	0,436	6
0,09	2,646	88	4,5	0,430	6
0,1	2,558		4,6	0,424	6
			4,7	0,418	6
0,1	2,558	546	4,8	0,412	6
0,2	2,012	292	4,9	0,407	5
0,3	1,720	194	5,0	0,402	5
0,4	1,526	140	5,1	0,397	5
0,5	1,386	110	5,2	0,392	5
0,6	1,276	88	5,3	0,388	4
0,7	1,188	73	5,4	0,383	5
0,8	1,115	61	5,5	0,379	4
0,9	1,054	54	5,6	0,374	5
1,0	1,000	47	5,7	0,370	4
1,1	0,953	41	5,8	0,366	4
1,2	0,912	40	5,9	0,362	4
1,3	0,872	31	6,0	0,358	4
1,4	0,841	30	6,1	0,354	4
1,5	0,811	27	6,2	0,351	3
1,6	0,784	25	6,3	0,347	4
1,7	0,759	23	6,4	0,344	3
1,8	0,736	21	6,5	0,340	4
1,9	0,715	20	6,6	0,337	3
2,0	0,695	19	6,7	0,334	3
2,1	0,676	18	6,8	0,330	4
2,2	0,658	17	6,9	0,327	3
2,3	0,641	16	7,0	0,324	3
2,4	0,625	15	7,1	0,321	3
2,5	0,610	14	7,2	0,318	3
2,6	0,596	13	7,3	0,315	3
2,7	0,583	12	7,4	0,313	2
2,8	0,571	11	7,5	0,310	3
2,9	0,560	11	7,6	0,307	3
3,0	0,549	10	7,7	0,305	2
3,1	0,539	10	7,8	0,302	3
3,2	0,529	10	7,9	0,299	3
3,3	0,519	9	8,0	0,297	2
3,4	0,510	9	8,1	0,294	3
3,5	0,501	8	8,2	0,292	2
3,6	0,493		8,3	0,289	3

Tafel der Funktion $k_2\, t_{max} = \frac{1}{\xi - 1} \ln \xi$ (Forts.)

ξ	$k_2\, t_{max}$	Differenz	ξ	$k_2\, t_{max}$	Differenz
8,3	0,289		100	0,047	
8,4	0,287	2	200	0,027	20
8,5	0,285	2	300	0,019	8
8,6	0,283	2	400	0,015	4
8,7	0,281	2	500	0,013	2
8,8	0,279	2	600	0,011	2
8,9	0,277	2	700	0,009	2
9,0	0,275	2	800	0,008	1
9,1	0,273	2	900	0,007	1
9,2	0,271	2	1000	0,006	1
9,3	0,269	2			
9,4	0,267	2	∞	0,000	
9,5	0,265	2			
9,6	0,263	2			
9,7	0,261	2			
9,8	0,259	2			
9,9	0,257	1			
10,0	0,256				
10	0,256				
11	0,240	16			
12	0,226	14			
13	0,214	12			
14	0,203	11			
15	0,193	10			
16	0,184	9			
17	0,176	8			
18	0,169	7			
19	0,163	6			
20	0,157	6			
21	0,152	5			
22	0,147	5			
23	0,143	4			
24	0,138	5			
25	0,134	4			
26	0,130	4			
27	0,127	3			
28	0,123	4			
29	0,120	3			
30	0,117	3			
30	0,117				
40	0,095	22			
50	0,079	16			
60	0,069	10			
70	0,062	7			
80	0,055	7			
90	0,050	5			
100	0,047	3			

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213. S. 453—466 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. Brücke).

Die Wirkung einiger aliphatischer α-ω-Bis-quarternärer Ammonium-Verbindungen auf die Skelettmuskulatur.

Von
K. H. Ginzel, H. Klupp und G. Werner.

Mit 10 Textabbildungen.

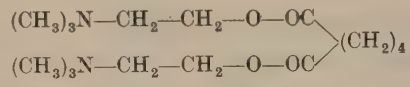
(Eingegangen am 16. März 1951.)

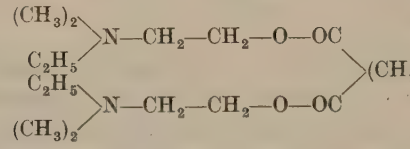
Neuromuskulär lähmende Stoffe werden neuerdings im wesentlichen in 2 Gruppen eingeteilt[1]: das d-Tubocurarin (d-TC) als typischer Vertreter der einen Gruppe blockiert die neuromuskuläre Erregungsübertragung an der motorischen Endplatte durch seinen Antagonismus gegenüber der depolarisierenden Wirkung des Azetylcholins[2]; Decamethonium (C 10) hingegen, das als Repräsentant der anderen Gruppe gilt, depolarisiert selbst die Muskelmembran und verhindert dadurch die Erregungsleitung in der Muskelfaser[3]; gleichzeitig wird das Endplattenpotential erniedrigt[4]. Die Depolarisation durch C 10 kann sich je nach den Versuchsbedingungen als Zuckung, Kontraktur oder Lähmung manifestieren; damit ist eine Ähnlichkeit zum Wirkungsbild von Azetylcholin gegeben. Die üblichen pharmakologischen Testmethoden für muskellähmende Substanzen gestatten nicht in allen Fällen die sichere Zuordnung eines zu untersuchenden Stoffes zu einer der beiden Gruppen.

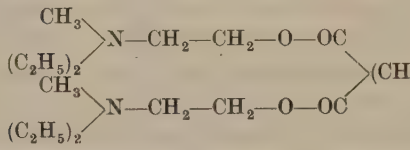
Die muskellähmende Wirksamkeit von aliphatischen Dicarbonsäureestern mit quartären Aminoäthanolen haben Bovet u. Mitarb.[5] sowie wir in vorangegangenen Mitteilungen beschrieben[6]. Im folgenden teilen wir die Versuche mit, die zur genaueren Charakterisierung der Wirkungsweise dieser Substanzen auf die Skelettmuskulatur und insbesondere ihrer Zugehörigkeit zum C 10- bzw. Curaretypus durchgeführt wurden. Für derartige Untersuchungen erscheint die Skelettmuskulatur von Vögeln als besonders geeignet: Buttle und Zaimis[7] haben gezeigt, daß C 10 bei diesen Tieren eine Kontraktur der Beinmuskulatur auslöst, während Curare schlaff lähmt. Bovet beobachtete bei Sperlingen eine Kontraktur nach Succinyl-bischolin (5). Zur objektiven Registrierung der Wirkung von Stoffen dieser Art auf die Skelettmuskulatur von Tauben entwickelten wir eine entsprechende Versuchsanordnung (siehe methodischen Teil). Diese ermöglicht die Messung der in der Kontraktur entwickelten Spannung des Musc. gastrocnemius und ihres zeitlichen Verlaufes; da der Muskel fortlaufend direkt und indirekt gereizt wird, können gleichzeitig

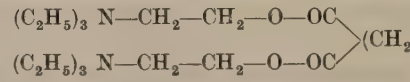
auch Veränderungen seiner Erregbarkeit unter dem Einfluß der verschiedenen Substanzen registriert werden. Außerdem prüften wir das Verhalten der nachstehend angeführten Substanzen im Vergleich zu C 10 und d-TC am innervierten Musc. tibialis ant. bzw. gastrocnemius der Katze bei direkter Reizung sowie vergleichend am chronisch denervierten Muskelpräparat.

In erster Linie erstrecken sich die Versuche auf die folgenden symmetrischen Di-Ester der Adipinsäure:

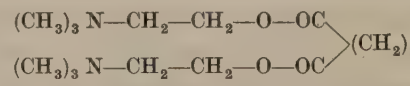
M 111  Adipinsäure-bis-cholinester

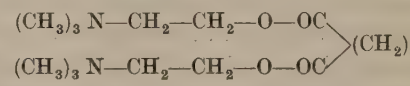
M 114  Adipinsäure-bis-ester des Äthyl-dimethylammoniumäthanols

M 124  Adipinsäure-bis-ester des Methyl-diäthylammoniumäthanols

M 106  Adipinsäure-bis-ester des Triäthylammoniumäthanols

Ferner wurden die dem M 111 homologen Verbindungen der Bernstein- bzw. Sebacinsäure in die Untersuchung mit einbezogen:

M 115  Bernsteinsäure-bis-cholinester

M 116  Sebacinsäure-bis-cholinester

Alle Verbindungen kamen als Jodsalze zur Verwendung*.

Methodik.

1. Versuche an Katzen: Die Tiere wurden mit Chloralose (70 mg/kg) narkotisiert; das Narkotikum wurde in Lokalanästhesie in die Vena saphena injiziert, wodurch die übliche Äthereinleitung vermieden werden konnte (siehe [8]). Die Präparation des Musc. tibialis ant. zur nahen arteriellen Injektion wurde in der von G. L. Brown[9] angegebenen Weise durchgeführt. Die vom Musc. tibialis bei indirekter und direkter Reizung entwickelte Spannung wurde semi-isometrisch mittels eines Torsionsdraht-Myographen registriert. Als Reizgeber diente ein Synchronmotor mit entsprechender Untersetzung; an seiner Achse war ein Schleifbügel

* Für Synthese und Überlassung dieser Substanzen danken wir der Österreichischen Stickstoffwerke A. G.

angebracht, der in Abständen von je 8 sec alternierend einen Kontakt zu den Elektroden für direkte bzw. indirekte Reizung auf die Dauer von 70 msec schloß. Als Stromquelle verwendeten wir ein Multivibratorgerät, das in weitem Bereich unabhängig vom Außenwiderstand Ströme konstanter Stromstärke liefert. Für die Reizung des Nerven wurden gedeckte, chlorierte Silberelektroden verwendet. Zur Reizung des Muskels wurde eine Nadelelektrode aus Silber als Kathode in den Muskelbauch eingestochen; als Anode diente ein dünner, um die Sehne des Muskels geschlungener Silberdraht. Die Reizung erfolgte mit übermaximalen Gleichstromstößen der angegebenen Dauer.

Bei 3 Katzen wurde 14—17 Tage vor dem Versuch der Nervus ischiadicus aseptisch durchschnitten. Zum akuten Versuch wurde ebenfalls der Musc. tibialis ant. für die nah-arterielle Injektion präpariert.

2. Versuche an Tauben: Tauben im Gewicht von 300—400 g wurden in leichter Äther- oder Pernoctonnarkose (5 mg pro Tier, langsam intravenös injiziert) decerebriert. Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Sauerstoffversorgung wurden die Tiere in Anlehnung an die Methode von WIELAND[10] künstlich beatmet: in die Trachea wurde eine Kanüle eingebunden und durch diese aus dem Auslaßventil der STARLINGschen Atempumpe rhythmisch in der Atemfrequenz Luft eingeblasen. Die Humerusknochen waren beiderseits eröffnet, so daß die eingeblasene Luft über die mit Lunge und Knochen kommunizierenden Luftsäcke abströmen konnte. In einigen Versuchen wurde im Nebenschluß zur Atempumpe ein Wassermanometer angeschlossen, welches den Druck der Einatemluft fortlaufend registrierte. Die Spannung, die der Musc. gastrocnemius bei indirekter und direkter Reizung entwickelte, wurde semiisometrisch registriert. Die Reizung erfolgte in der oben beschriebenen Weise alternierend direkt und indirekt; injiziert wurde durch eine in die Flügelvene eingebundene Kanüle.

Ergebnisse.

1. Versuche an Katzen.

Bei naher arterieller Injektion in die Arteria tibialis ant. bewirkt M 111 in Dosen von 10 μg nach einer, der Injektion unmittelbar folgenden Muskelzuckung eine flüchtige, fast vollständige Lähmung der indirekten

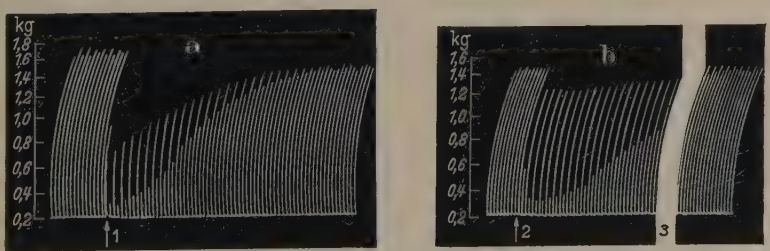


Abb. 1. Katze, 3,6 kg; direkte und indirekte Reizung des Musc. tibialis ant. mit supramaximalen Reizströmen; Intervall zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Reizen: 8 sec. Die Injektionen erfolgten rückläufig in die Art. tibialis ant. a: bei 1:10 μg M 111; der Pfeil weist auf die der Injektion folgende Zuckung. b: bei 2: 120 μg d-Tubocurarin. Bei 3: 5 min Intervall.

Erregbarkeit des Musc. tibialis: seine Kontraktionshöhe ist bei Erregung vom Nerven her zum Zeitpunkt des Wirkungsmaximums um etwa 90% erniedrigt (Abb. 1a). Gleichzeitig mit der Abnahme der Muskelspannung nach indirekter Reizung wird auch die Kontraktionshöhe bei direkter

Reizung um etwa 50% herabgesetzt. Im Verlaufe von etwa 6 min ist die anfängliche direkte und indirekte Erregbarkeit des Muskels wiederhergestellt. Zum Vergleich wurden an demselben Muskelpräparat danach 120 μg d-TC intraarteriell injiziert (Abb. 1b): die Kontraktionshöhe nach indirekter Reizung sinkt daraufhin um 85%, während sie bei direkter Reizung des Muskels nur um etwa 10% abnimmt. M 111 und d-TC verhalten sich somit in Dosen, die die indirekte Erregbarkeit in annähernd demselben Maße vermindern, in bezug auf die Kontraktionshöhe nach direkter Reizung verschieden. Dabei kommt es auf die Reihenfolge der Injektionen entscheidend an: es zeigte sich nämlich, daß M 111, wenn es nach Abklingen einer Curarelähmung injiziert wird, die Erregbarkeit des Muskels vom Nerven her in geringerem Maße und für kürzere Dauer

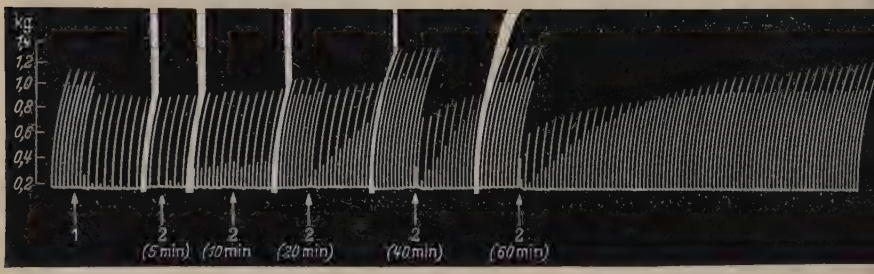


Abb. 2. Katze, 3,5 kg; Reizung und Injektionen erfolgten wie in Abb. 1; die höheren Ausschläge entsprechen der indirekten Reizung bei 1: 250 μg d-Tubocurarin; 2: je 20 μg M 111; neben den Injektionsmarken sind in Klammer die zeitlichen Abstände von der d-TC Injektion angegeben (bei der 3., 4. und 5. Injektion weist der Pfeil auf die Muskelzuckung nach der Injektion). Nach der letzten Injektion von M 111 ist der Verlauf der Erholung vollständig wiedergegeben.

herabsetzt, als dies bei derselben Dosis von M 111 vor Curare der Fall war; die Abnahme der Kontraktionshöhe nach direkter Reizung bleibt dann überhaupt aus; ferner ist die der Injektion unmittelbar folgende Muskelzuckung deutlich kleiner bzw. gar nicht zu beobachten. Gleichlaufend mit der allmählichen Wiederkehr der normalen Empfindlichkeit des Muskels gegenüber der lähmenden Wirkung des M 111 tritt auch die der Injektion folgende Muskelzuckung wieder in der anfänglichen Höhe auf: nach einer Curaredosis von 250 μg d-TC ist dies etwa 40—60 min nach Ende der Lähmung der Fall. Wird hingegen die für diese Versuche gewählte Testdosis von M 111 (20 μg) noch während des Bestehens der fast vollständigen Curarelähmung in die Arteria tibialis injiziert, so bleibt die Erregung des Muskels überhaupt aus; auch tritt keine zusätzliche Lähmung der indirekten und keine Herabsetzung der direkten Erregbarkeit in Erscheinung, d. h. das Kurvenbild der Curarelähmung wird durch die Injektion dieser Dosis von M 111 nicht beeinflußt. Der Ablauf eines solchen Versuches ist ausschnittweise in Abb. 2 wiedergegeben.

Zum Vergleich injizierten wir in 2 Versuchen Decamethonium in Dosen von 6—8 μg intraarteriell: zum Zeitpunkt der maximalen Lähmung, die etwa 4—5 min

nach der Injektion eintritt, ist die Kontraktionshöhe des Muskels bei indirekter Reizung um etwa 90% herabgesetzt; bei direkter Reizung ist die Muskelspannung gleichzeitig um etwa 40% erniedrigt. Somit reduziert eine Dosis von C 10, die bezüglich der Intensität der Lähmung bei indirekter Reizung mit einer M 111-Dosis wirkungsgleich ist, auch die direkte Erregbarkeit im gleichen Außmaß wie M 111; der Grad der Herabsetzung der Kontraktionshöhe nach direkter Reizung ist demnach unter unseren Versuchsbedingungen deutlich größer als unter Einwirkung von Curare, das nur gelegentlich die direkte Erregbarkeit geringfügig herabsetzte: die Erniedrigung der Kontraktionshöhe betrug in diesen Fällen nie mehr als 5—10% der Ausgangshöhe.

Dem M 111 qualitativ gleichartig verhält sich sein symmetrisches Monoäthylderivat M 114. Die bedeutend schwächer wirksame analoge Triäthylverbindung M 106 zeigt in dieser Versuchsanordnung rein curareartige Wirkungen: in Dosen von 1—2 mg (intraarteriell injiziert) wird die indirekte Erregbarkeit um 80—90% herabgesetzt; die Kontraktionshöhe bei direkter Reizung wird nur unwesentlich erniedrigt; die Wirkung solcher Dosen dauert etwa 10—15 min an. Für das Diäthylsubstitutionsprodukt M 124 kann auf Grund der vorliegenden Versuche an Katzen keine eindeutige Zuordnung zu einem der beiden früher beschriebenen Wirkungsbilder getroffen werden: 40—80 μg dieser Substanz bewirken nach intraarterieller Injektion in allen Versuchen eine Abnahme der Kontraktionshöhe nach indirekter Reizung um 60—90%; die direkte Erregbarkeit des Muskels blieb in einigen Versuchen auch zum Zeitpunkt des Wirkungsmaximums ebenso wie nach Curare bzw. nach M 106 praktisch unverändert, in anderen Versuchen hingegen nahm die Kontraktionshöhe auch bei direkter Reizung um 20—40% ab.

Die Abnahme der direkten Erregbarkeit des Musc. tibialis ist auch nach intravenöser Injektion von M 111 in Dosen von 80—120 μg/kg zu beobachten; nach solchen Dosen wird die Kontraktionshöhe bei indirekter Reizung um 50—90% erniedrigt; die durch direkte Reizung ausgelösten Kontraktionen sind gleichzeitig auf etwa 50% herabgesetzt. Nach 5—10 min ist das Ausgangsniveau der Kontraktionshöhe für direkte und indirekte Reizung wieder erreicht.

Wegen der unterschiedlichen Reaktionsweise verschiedener Skelettmuskel gegenüber C 10^{11} untersuchten wir auch die Wirkung von M 111 auf den Musc. gastrocnemius der Katze: die Injektionen erfolgten rückläufig durch eine in die Art. ilica der Gegenseite eingebundene Kanüle; während des Injizierens wurde die Aorta abgeklemmt. Der Musc. gastrocnemius wurde wiederum alternierend direkt und indirekt mit supramaximalen Stromstößen gereizt. Die Lähmung der direkten und der indirekten Erregbarkeit durch M 111 verhielt sich auch an diesem Muskelpräparat genau so wie am Musc. tibialis: in Dosen, die die Kontraktionshöhe nach indirekter Reizung um etwa 90% erniedrigen (80—100 μg M 111), wird die Größe der Zuckung nach direkter Muskelreizung auf

etwa die Hälfte herabgesetzt. Die der Lähmung vorangehende Erregung des Muskels ist in dieser Anordnung relativ stärker ausgeprägt, als am Musc. tibialis.

In der gleichen Versuchsanordnung prüften wir ferner das Verhalten des Musc. gastrocnemius während der Lähmung durch Azetylcholin: zu diesem Zwecke wurden die Tiere mit Atropin (1 mg/kg) intravenös und Prostigmin (50 μg) intraarteriell vorbehandelt. Unter diesen Bedingungen kann mit 80—150 μg Azetylcholin die indirekte Erregbarkeit kurzdauernd vollständig gelähmt werden; die direkte Erregbarkeit ist dabei um etwa 50% herabgesetzt. Azetylcholin beeinflußt demnach die direkte Erregbarkeit des Muskels ebenso wie M 111 bzw. C 10.

Am chronisch denervierten Musc. tibialis ant. der Katze bewirkt M 111 bei naher arterieller Injektion in die Art. tibialis in gleichen Dosen wie Azetylcholin das typische Kurvenbild, das für muskelerregende Substanzen von Dale und Gasser[12] und Brown[13] beschrieben wurde: bei entsprechender Wahl der Dosis besteht dieses aus einer im Moment der Injektion auftretenden Zuckung, der nach kurzem Intervall eine sich langsam entwickelnde Kontraktur folgt; die Muskelspannung zum Zeitpunkt des Kontrakturmaximums übersteigt jene der supramaximalen direkten Einzelreizung (Abb. 3). Nach Ablauf der Kontraktur durch M 111 ist die direkte Erregbarkeit des Muskels für einige Minuten vermindert bzw. vollständig aufgehoben; Azetylcholinkontrakturen verhalten sich in dieser Hinsicht gleich. Die Kontraktur durch C 10 am denervierten Säugetiermuskel weist dieselbe Eigenschaft auf[14].

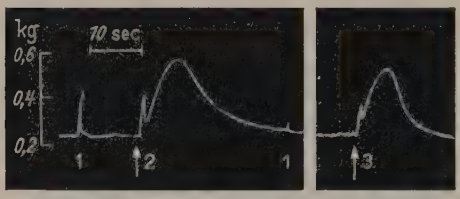


Abb. 3. Katze, 2,5 kg; 14 Tage nach aseptischer Durchschneidung des Nerv. ischiadicus; die Injektionen erfolgen in die Art. tibialis ant. Bei 1: direkte supramaximale Reizung des Musc. tib. ant. Bei 2: 4 μg M 111. Bei 3: 4 μg Azetylcholin.

2. Versuche an Tauben.

Bei intravenöser Injektion in der im methodischen Teil beschriebenen Versuchsanordnung an Tauben erzeugt M 111 eine kurz dauernde Kontraktur; gleich große Dosen von C 10 bewirken eine Kontraktur von etwa der gleichen maximalen Spannung, jedoch deutlich längerer Dauer (Abb. 4). Wenn die Kontraktur bei entsprechender Dosis niedriger ist als die Höhe der Muskelzuckungen bei direkter und indirekter Reizung, so setzen sich diese auf die Kontraktur derart auf, daß der obere Kontur des Kurvenzuges annähernd beibehalten wird. Das gleiche Verhalten zeigt der Muskel nach intravenöser Injektion von Azetylcholin am atropinisierten Tier (100 μg Atropin. sulf. pro 100 g Tiergewicht). Auf der Höhe

bzw. während der Rückbildung der Kontraktur beobachteten wir in der Mehrzahl der Versuche das bereits von RIESSER und NEUSCHLOSS[15] beschriebene Phänomen des „Durchreißens".

Abb. 5 zeigt den Vergleich der Wirksamkeit von M 111, M 114 und M 116 mit Azetylcholin: M 111 und M 114 sind sowohl bezüglich der

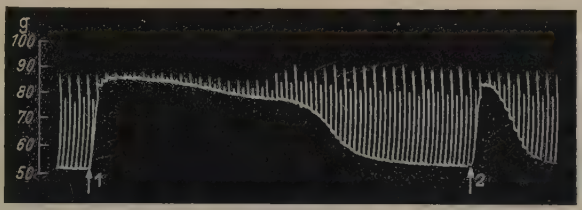


Abb. 4. Taube 300 g; in Äthernarkose decerebriert, künstlich beatmet. Direkte und indirekte Reizung des Musc. gastrocnemius mit supramaximalen Einzelreizen; Intervall zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Reizen: 8 sec. Die Injektionen erfolgten in die Flügelvene. Die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Der höhere Ausschlag entspricht der direkten Reizung. Bei 1:10 μg C 10. Bei 2:10 μg M 111.

Intensität als auch bezüglich der Dauer der Kontraktur gleich wirksam; Azetylcholin hat demgegenüber nur etwa $^1/_5$—$^1/_{10}$ der Wirksamkeit. Die dem M 111 homologe Verbindung M 116, deren Dicarbonsäure 10 Kohlenstoffatome in der Kette enthält, ist weniger wirksam: die Kontraktur nach 10 μg M 116 entwickelt nur etwa die Hälfte der Spannung, wie jene nach derselben Dosis von M 111 und M 114 (alle Dosisangaben beziehen sich dabei auf 100 g Tiergewicht). Erst 20 μg M 116 sind in der Mehrzahl der Versuche etwa wirkungsgleich mit 10 μg M 111. Der Bernsteinsäure-bis-Cholinester M 115 mit 4 Kohlenstoffatomen stellt die wirksamste Verbindung der vorliegenden Untersuchungsreihe dar: etwa 7—8 μg M 115 wirken gleich stark kontrakturauslösend wie 10 μg M 111 (siehe Abb. 6). Daraus ergibt sich, daß die kontrakturauslösende Wirksamkeit der untersuchten Substanzen mit zunehmender Kettenlänge der Dicarbonsäure in der Reihenfolge: M 115 — M 111 — M 116 abnimmt. Allerdings ist dabei nicht berücksichtigt, daß die einzelnen Substanzen von der Serumcholinesterase verschieden rasch gespalten werden[16].

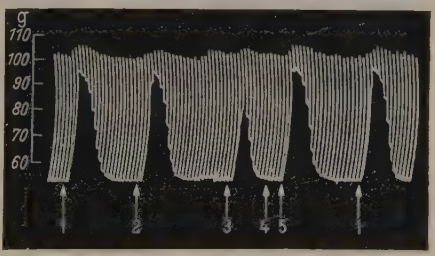


Abb. 5. Taube, 250 g; Präparation und Reizung wie in Abb. 4. Bei 1:10 μg M 111; 2:10 μg M 114; 3:10 μg M 116; 4:100 μg Atropin. sulf.; 5:100 μg Azetylcholin.

Wenn gleichzeitig der Druck der Einatemluft gemessen wurde (siehe Methodik), so konnten wir beobachten, daß dieser während einer Kontraktur der Beinmuskulatur beträchtlich anstieg, wobei zwischen Stärke

bzw. Dauer der Kontraktur und Druckzuwachs in der Einatemluft ein direkter Zusammenhang bestand. Die Drucksteigerung ist durch einen der Kontraktur der Beinmuskulatur entsprechenden und parallel laufenden Krampf der Thoraxmuskulatur bewirkt: bei offenem Thorax verursachen auch höhere Dosen von M 111 keine Steigerung des Einatemwiderstandes während der ganzen Dauer der Streckkrämpfe der Extremitäten.

Das Kurvenbild nach Injektion von d-TC unterscheidet sich an der Taube grundsätzlich von dem der bisher beschriebenen Stoffe: Curare erzeugt keine Kontraktur, sondern nur eine Lähmung der indirekten Erregbarkeit des Muskels (siehe Abb. 9); die direkte Erregbarkeit bleibt dabei vollkommen unverändert. Die Curareempfindlichkeit der Tiere

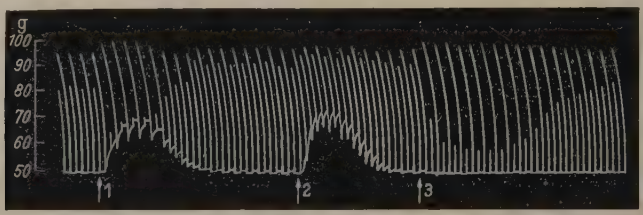


Abb. 6. Taube, 300 g; in Pernoctonnarkose (5 mg, intravenös) decerebriert; künstliche Atmung, Reizung wie in Abb. 4; die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Die höheren Ausschläge entsprechen der direkten Reizung. Bei 1: 3 mg M 124; 2: 6 μg M 115; 3: 2 mg M 106.

variierte in unseren Versuchen beträchtlich; in der Mehrzahl der Versuche lähmten 40 μg d-TC für etwa 20—30 min, wobei die indirekte Erregbarkeit für etwa 10 min vollkommen erloschen war.

Die Wirkung von M 106 ist aus Abb. 6 ersichtlich: 2 mg dieser Substanz setzen die indirekte Erregbarkeit um etwa 80% herab; die Erholungsdauer beträgt etwa 3 min; dabei bleibt die direkte Erregbarkeit unverändert. Demnach ist die muskellähmende Wirkung des M 106 als curareartige zu klassifizieren und von der seiner Trimethylverbindung M 111 bzw. seiner Dimethyl-monoäthylverbindung M 114 grundsätzlich verschieden. Die Diäthyl-monomethylverbindung M 124 hingegen vereinigt in ihrem Wirkungsbild an der Taube sowohl die kontrakturauslösende Wirkung von M 111 und M 114 als auch die curareartige des M 106: nach intravenöser Injektion einer Dosis von 3 mg M 124 tritt eine Kontraktur von etwa 2 min Dauer auf, deren maximale Höhe 50% der Kontraktionshöhe nach supramaximaler Reizung erreicht; während des Bestehens der Kontraktur fallen die Zuckungen nach indirekter Reizung aus (Abb. 6). Niedrigere Dosen von M 124, etwa 1 mg, bewirken eine fast gleich starke Kontraktur wie die früher angegebenen Dosis von 3 mg, wobei die indirekte Erregbarkeit nur geringfügig herabgesetzt ist. Ein der Wirkung von M 124 entsprechendes Kurvenbild kann auch dann be-

obachtet werden, wenn geeignete Dosen eines rein kontrakturauslösenden Stoffes (z. B. M 111) zusammen mit einer curareartig lähmenden Substanz (z. B. M 106) gleichzeitig injiziert werden.

Wenn hingegen während des Bestehens einer länger dauernden Kontraktur, deren Spannung jene der maximalen Reizerfolge erreicht oder übertrifft, eine curareartig lähmende Substanz in entsprechender Dosis injiziert wird, so wird diese Kontraktur augenblicklich gelöst. Die kontrakturlösende Wirkung des „Curarestoffes" betrifft sowohl den

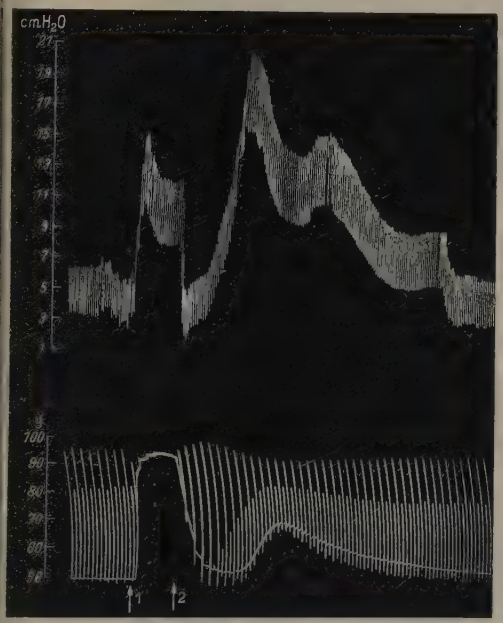


Abb. 7.

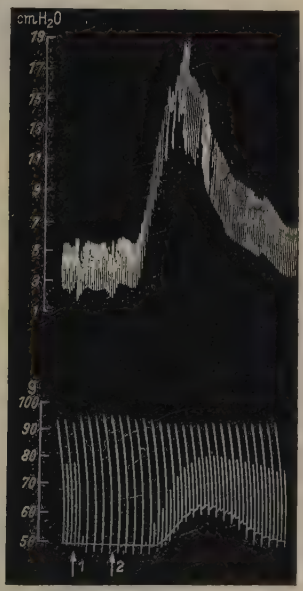


Abb. 8.

Abb. 7. Taube, 350 g; in Äthernarkose decerebriert, künstlich beatmet; Reizung wie in Abb. 4; die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Obere Kurve: Einatemwiderstand (in cm H_2O); untere Kurve: Muskelkontraktionen (die höheren Ausschläge entsprechen der direkten Reizung). Bei 1: 20 μg C 10; 2: 500 μg M 106.

Abb. 8. Taube, 340 g. In Äthernarkose decerebriert, künstlich beatmet; Reizung wie in Abb. 4. Die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Obere Kurve: Einatemwiderstand (cm H_2O), untere Kurve: Muskelkontraktionen. Bei 1: 2 mg M 106; 2: 10 μg C 10.

Extremitätenkrampf, als auch die Spannung der Thoraxmuskulatur. Ein Beispiel für einen derartigen Versuch stellt Abb. 7 dar: 20 μg C 10 bewirken eine Kontraktur des Musc. gastrocnemius und gleichzeitig damit eine Steigerung des Einatemwiderstandes; durch 500 μg M 106, die am Höhepunkt der Kontraktur injiziert werden, wird die Kontraktur sowohl des Musc. gastrocnemius als auch der Thoraxmuskulatur sofort gelöst: Einatemwiderstand und Ruhelänge des Musc. gastrocnemius nehmen ihre Ausgangswerte wieder an. Die Wirkung von M 106 äußert sich ferner

in der Lähmung der indirekten Erregbarkeit; diese kehrt entsprechend der Flüchtigkeit der M 106-Wirkung nach etwa 3 min wieder. Erfahrungsgemäß dauert die Kontraktur nach C 10 wesentlich länger; daher tritt gleichzeitig mit dem Abklingen der M 106-Wirkung die C 10-Kontraktur an Extremitäten und Atemmuskulatur wieder in Erscheinung. Die hierbei vom Musc. gastrocnemius entwickelte Spannung erreicht allerdings

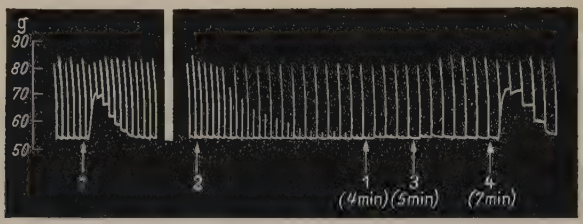


Abb. 9. Taube, 280 g. Präparation und Reizung wie in Abb. 4; die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Bei 1:10 μg M 111; 2:40 μg d-Tubocurarin; 3:40 μg M 111; 4: 100 μg M 111. Neben den Injektionsmarken sind in Klammer die zeitlichen Abstände von der d-TC Injektion angegeben.

nicht mehr jene Höhe, welche sie nach derselben Dosis von C 10 ohne nachfolgende Injektion von M 106 zu diesem Zeitpunkt noch hätte (vgl. Abb. 4). Dementsprechend ist die Wirkung von C 10 auch dann deutlich abgeschwächt, wenn es während einer Lähmung durch M 106 injiziert wird (Abb. 8). Etwa 5—10 min nach der Injektion von M 106 ist die anfängliche Empfindlichkeit gegenüber C 10 wiederhergestellt. In gleicher Weise wird auch die kontrakturauslösende Wirksamkeit der Bis-Cholinester durch vorangegangene Injektion von M 106 herabgesetzt. Wenn in

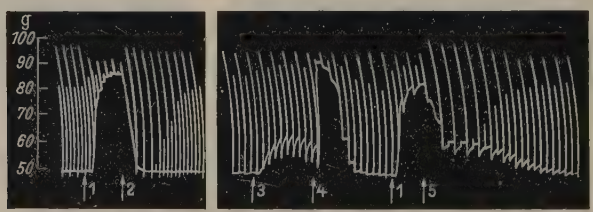


Abb. 10. Taube, 320 g; in Pernoctonnarkose decerebriert (5 mg intravenös); Präparation und Reizung wie in Abb. 4; die der direkten Reizung entsprechenden Muskelzuckungen sind höher. Die Dosen sind pro 100 g Tiergewicht angegeben. Bei 1:8 μg M 115; 2:500 μg M 106; 3:5 μg M 115; 4:10 μg M 111; 5:2 mg M 124 (zwischen 2 und 3 wurde die Laufgeschwindigkeit des Kymographions erhöht).

diesen Versuchen d-TC an Stelle von M 106 injiziert wird, ändert sich die Empfindlichkeit gegen kontrakturauslösende Substanzen in ähnlicher Weise, nur dauert die Wirkung von Curare entsprechend länger. Dadurch ist es möglich, in den Versuchen mit d-TC den Antagonismus gegenüber kontrakturauslösenden Substanzen quantitativ auszuwerten: es stellt sich dabei heraus, daß nach vorangegangener Injektion von d-TC die Dosis des kontrakturauslösenden Stoffes in einem von der Curaredosis

abhängenden Ausmaß erhöht werden muß, um die gleiche Kontraktur zu bewirken wie vor Curare. Abb. 9 gibt einen Ausschnitt aus einem derartigen Versuch.

Es wurde oben gezeigt, daß M 124 sowohl eine curareartige als auch eine kontrakturauslösende Wirkungskomponente besitzt: injiziert man M 124 auf der Höhe einer länger dauernden Kontraktur (z. B. nach C 10 oder M 115), so tritt nur sein curareartiger Wirkungsanteil in Erscheinung; die Kontraktur wird teilweise gelöst, gleichzeitig bleiben die Muskelzuckungen nach indirekter Reizung aus. Dabei ist die kontrakturlösende Wirksamkeit von M 124 bedeutend geringer als jene von M 106, wie aus der Gegenüberstellung in Abb. 10 ersichtlich ist. Wird unter denselben Bedingungen während der Kontraktur durch M 115 eine Substanz von rein C 10-artigem Wirkungscharakter injiziert, so setzt sich die der Dosis entsprechende Kontraktur auf die bereits bestehende auf.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Registrierung der Kontraktionen des Säugetiermuskels bei direkter und indirekter Reizung liefert 2 verschiedene Wirkungsbilder muskellähmender Stoffe: bei nahezu vollständiger Lähmung der indirekten Erregbarkeit werden die Muskelzuckungen nach direkter Reizung durch *eine* Gruppe von Substanzen (C 10 und Bis-Cholinester von Dicarbonsäuren sowie M 114) auf etwa die Hälfte erniedrigt; eine zweite Gruppe von Substanzen (d-TC, M 106) beeinflußt die direkte Erregbarkeit unter diesen Bedingungen nicht nennenswert.

Die Wirkung von C 10 auf die direkte Erregbarkeit des Muskels ist offenbar der Ausdruck der Depolarisation der Muskelmembran durch diese Substanz. Das gleichartige Verhalten von C 10 und den Bis-Cholinestern in unseren Versuchen macht es wahrscheinlich, daß auch diese die Muskelmembran selbst zumindest partiell unerregbar machen. Zusammenhänge zwischen Muskellähmung und Depolarisation der Muskelmembran bestehen auch bei Azetylcholin; auch dieses vermindert in unseren Versuchen die direkte Erregbarkeit in etwa demselben Ausmaß wie C 10 bzw. M 111. Demnach verhalten sich einerseits Azetylcholin und andererseits C 10 und M 111 bzw. seine Homologen auch bezüglich der Muskellähmung analog; die Gleichartigkeit der erregenden Wirkungen von Azetylcholin und C 10 wurde von Zaimis[14], die der erregenden Wirkung von Azetylcholin und M 111 usw. bereits von uns beschrieben[6, 16].

Auch am denervierten Säugetiermuskel zeigen Azetylcholin und M 111 ein übereinstimmendes Verhalten: M 111 bewirkt eine Kontraktur, die die Charakteristika der Azetylcholin-Kontraktur aufweist. Für C 10 wurde die kontrakturauslösende Wirkung am chronisch denervierten Musc. gastrocnemius der Katze bereits beschrieben und mit der von Azetylcholin verglichen[14].

Paton und Zaimis[17] haben beobachtet, daß Curare die Wirkung von nachfolgend injiziertem C 10 auf den Muskel verringert. Für die Substanz M 111 fanden wir ebenfalls eine Abschwächung ihrer Wirksamkeit, wenn vorher Curare injiziert wurde: diese betrifft sowohl die erregende Wirkung des M 111, die als Muskelzuckung bei naher arterieller Injektion in Erscheinung tritt, als auch die nachfolgende Lähmung. Auch nach Ende der Curarelähmung besteht noch eine verringerte Empfindlichkeit des Muskels durch längere Zeit weiter: in erster Linie ist die erregende Wirkung des M 111 sowie die Lähmung der direkten Erregbarkeit vermindert. Die anfängliche Empfindlichkeit wird erst allmählich wieder erreicht.

Nach den Angaben von Jarcho et al.[4] verhindert d-TC die Depolarisation des Muskels durch C 10. Das Ausbleiben der Wirkung des M 111 auf die direkte Erregbarkeit nach d-TC entspricht offenbar dieser von Jarcho u. Mitarb. beschriebenen Wirkung von Curare auf die Muskelmembran. Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Zustandsänderung der Muskelmembran durch Curare seine lähmende Wirkung auf die indirekte Erregbarkeit weitaus überdauert. Curare schützt die Muskelmembran demnach beim Warmblüter für längere Zeit gegenüber depolarisierenden Einflüssen, als es den Übertritt der Erregung vom Nerven zum Muskel blockiert.

An der Skelettmuskulatur von Tauben bewirken jene Substanzen, die am Säugetiermuskel neben der indirekten auch die direkte Erregbarkeit lähmen, eine Kontraktur. Hingegen wirken die Substanzen, die an der Katze lediglich die indirekte Erregbarkeit herabsetzen (d-TC, M 106), an der Taube ebenso. Aus diesem Grunde eignet sich die Skelettmuskulatur der Taube (und vermutlich auch anderer Vögel) in besonderem Maße zur Differenzierung zwischen curare- und C 10-artig wirkenden Stoffen.

Für die hier untersuchten Bis-Cholinester haben wir die Dosis-Wirkungsbeziehungen in bezug auf die Dauer der Streckkrämpfe der Beinmuskulatur der Taube bereits mitgeteilt[6]; die dort beschriebenen Beobachtungen wurden am intakten Ganztier durchgeführt. Hinsichtlich der Wirkungsstärke der untersuchten Substanzen finden wir in der hier verwendeten Versuchsanordnung im wesentlichen dieselben Verhältnisse; die fortlaufende Registrierung der Spannung des Musc. gastrocnemius ermöglicht in diesen Versuchen den Nachweis der Wirkung von Dosen, die bei rein visueller Beobachtung noch nicht festzustellen war. Dementsprechend bewegen sich die hier beschriebenen Versuche in einem niedrigeren Dosenbereich.

Die kontrakturauslösende Wirksamkeit des C 10 bzw. der Bis-Cholinester wird durch curareartig lähmende Substanzen antagonisiert; auch darin steht die Kontraktur des Taubenmuskels in Analogie zur Lähmung der direkten Erregbarkeit an der Katze.

Der Bis-Cholinester der Adipinsäure M 111 und sein N-bis-Triäthylderivat M 106 gehören auf Grund ihres Verhaltens an der Muskulatur

sowohl von Katzen als auch von Tauben je einer der beiden Wirkungsgruppen muskellähmender Stoffe an: demzufolge besteht zwischen den beiden Substanzen ein Antagonismus der beschriebenen Art. Dieser Befund ist in Hinblick auf die nahe chemische Verwandtschaft der beiden Verbindungen bemerkenswert. Als Zwischenglied in der Reihe der Äthylsubstitutionsprodukte zwischen M 111 und M 106 besitzt das symmetrische Diäthylderivat teils Eigenschaften, die für curare-artige Substanzen charakteristisch sind, teils solche, die dem C 10-Typus zugerechnet werden.

Angesichts dieser Besonderheit erhebt sich die Frage, wie die Vereinigung dieser beiden, an sich gegensätzlichen Wirkungen in ein und derselben Substanz möglich ist. Nun ist zu bedenken, daß die charakteristische Wirkung von Curare an der quergestreiften Muskelfaser sowohl an der motorischen Endplatte als auch an der eigentlichen Muskelmembran selbst als Hemmung der Depolarisation in Erscheinung tritt. Die Wirkung von C 10 ist allem Anschein nach an dieselben Wirkungsorte gebunden, doch gegensätzlicher Natur. C 10 und Curare sowie die ihrem Verhalten nach analogen Dicarbonsäureester haben somit gemeinsam die Orte ihrer Wirkung. Damit liegen die Unterschiede der Wirkungsweise der bisquarternären Adipinsäure-Ester M 111, M 114, M 124 und M 106 nur darin, welchen Anteil an depolarisierender bzw. depolarisationshemmender Wirkung sie an diesen Wirkungsorten aufweisen.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von einigen aliphatischen α, ω-bisquarternären Ammoniumverbindungen auf die Skelettmuskulatur von Katzen und Tauben wurde mit jener von Decamethonium (C 10) und d-Tubocurarin (d-TC) verglichen. Zu diesem Zwecke wurde die direkte und indirekte Erregbarkeit des Musc. tibialis ant. bzw. gastrocnemius geprüft.

Die Bis-cholinester verhalten sich an beiden vorerwähnten Versuchstieren gleichartig wie C 10 und Azetylcholin: an der Katze bewirken sie eine Herabsetzung sowohl der indirekten als auch der direkten Erregbarkeit; an der Taube lösen sie eine Kontraktur aus.

Das dem Adipinsäure-bis-Cholinester entsprechende symmetrische Triäthylderivat (M 106) lähmt an Taube und Katze nur die indirekte Erregbarkeit ebenso wie d-TC.

Die Substanzen der „C 10-Gruppe" zeigen gegenüber jenen der „Curaregruppe" einen Antagonismus analog dem Verhältnis von Azetylcholin zu d-TC. Dieser Antagonismus ist auch nach Ende der eigentlichen Curarelähmung noch für längere Zeit nachweisbar.

Die Bis-Diäthylverbindung M 124 besitzt sowohl eine curareartige als auch eine kontrakturauslösende Wirkungskomponente (Taube).

Literatur.

[1] Paton, W. D. M.: J. Pharm. Pharmacol. **1**, 273 (1949). — [2] Kuffler, S. W.: J. Neurophysiol. **5**, 18 (1942); **6**, 19 (1943). — [3] Burns, B. D., u. W. D. M. Paton: unveröffentl., zit. aus: Feldberg, W., Verh. dtsch. Pharmak. Ges. **17**, 64 (1950). — [4] Jarcho, L. W., C. Eyzaguirre, S. A. Talbot u. J. L. Lilienthal: Amer. J. Physiol. **162**, 475 (1950). — [5] Bovet, D., F. Bovet-Nitti, S. Guarino, V. G. Longo u. M. Marotta: Estratto d. Rendic. dell'Istituto sup. di Sanita **12**, 106 (1949). — [6] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie 1951; 86, 385 und 87, 79. — [7] Buttle, G. A. H., u. E. Zaimis: J. Pharm. Pharmacol. **1**, 991 (1949). — [8] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie 1951; 2. Mitteilg.; (im Druck). — [9] Brown, G. L.: J. of Physiol. **92**, 22 P. (1938). — [10] Wieland, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **79**, 95 (1916). — [11] Paton, W. D. M., u. E. J. Zaimis: J. of Physiol. **108**, 34 P. (1949). — [12] Dale, H. H., u. H. S. Gasser: J. of Pharmacol. **29**, 53 (1926). — [13] Brown, G. L.: J. of Physiol. **89**, 438 (1937). — [14] Zaimis, E. J.: J. of Physiol. **112**, 176 (1951). — [15] Riesser, O., u. S. M. Neuschloss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 342 (1921). — [16] Ginzel, K. H., H. Klupp u. G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie 1951; 3. Mitteilg.; (im Druck). — [17] Paton, W. D. M., u. E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949).

Dr. K. H. Ginzel, Dr. H. Klupp, Dr. G. Werner, Wien IX/71, Währingerstr. 13 A, Pharmakol. Institut d. Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 467—472 (1951).

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. E. Lehnartz), dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. A. Loeser) und dem Chemischen Institut (Direktor: Prof. Dr. phil. F. Micheel) der Universität Münster.

Absorptionsmessungen an verschieden substituierten Thiouracilen nach Farbreaktion mit Grotes Reagens.

Von

W. Doden, R. Kopf und H. Specker.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1951.)

In einer früheren Arbeit[1] wurde eine Methode zur Bestimmung von 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil mitgeteilt. Es konnte gezeigt werden, daß sie zum quantitativen Nachweis dieser schwefelhaltigen antithyreoidalen Verbindungen im Serum und im Harn geeignet ist. Die Bestimmung beruht auf einer Farbreaktion der im Molekül der genannten Substanzen vorhandenen

$$\begin{array}{ccc} -C- & \text{bzw.} & -C= \\ \| & & | \\ S & & SH \end{array}$$

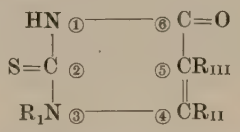
Gruppe mit dem im Prinzip von Grote[2] angegebenen Reagens. Wie schon früher betont wurde, ist die chemische Konstitution des entstehenden Farbstoffes noch nicht geklärt.

In der vorliegenden Arbeit haben wir mit dem Stufenphotometer die Absorption verschieden substituierter Thiouracilderivate gemessen, die im einzelnen weiter unten aufgeführt sind. Dabei wurde auf Grund der Theorie der Beeinflussung mehrerer chromophorer Gruppen im Grundmolekül[3] von folgender Annahme ausgegangen:

Es ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die Einführung einfacher Alkylreste in 4- oder 5-Stellung nur einen geringen bathochromen Effekt zeigen wird, der innerhalb der Fehlergrenzen der Meßmethode liegt. Einführung von Phenylresten wird eine meßbare Verschiebung des Absorptionsspektrums bedingen. Werden auxochrome Gruppen, z. B. $-NH_2$ eingeführt, so wird das Farbstoffmolekül in nicht mehr übersehbarer Weise beeinflußt werden und eine starke Verschiebung des Absorptionsspektrums nach Rot und eine Erhöhung der Extinktion ein-

treten. Die durchgeführten Messungen bestätigen zum Teil in guter Übereinstimmung unsere Vorstellungen.

Folgende Verbindungen* wurden untersucht:



Grundmolekül der Thiouracilreihe

Gruppe A: 2-Thiouracil**: ($R_I = —H$, $R_{II} = —H$, $R_{III} = —H$)

4-Methyl-2-thiouracil: ($R_I = —H$, $R_{II} = —CH_3$, $R_{III} = —H$)

4-Propyl-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —CH_2—CH_2—CH_3$, $R_{III} = —H$)

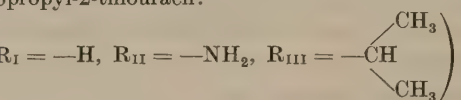
Gruppe B: 4-Amino-2-thiouracil: ($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —H$)

4-Amino-5-methyl-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —CH_3$)

4-Amino-5-äthyl-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —CH_2—CH_3$)

4-Amino-5-n-propyl-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —CH_2—CH_2—CH_3$)

4-Amino-5-isopropyl-2-thiouracil:



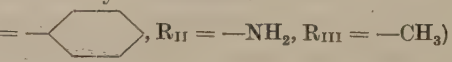
4-Amino-5-n-butyl-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —CH_2—CH_2—CH_2—CH_3$)

4-Amino-5-benzyl-2-thiouracil:

Gruppe C: 4,5-Diamino-2-thiouracil: ($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —NH_2$)

4,5-Diamino-6-imino-2-thiouracil:
($R_I = —H$, $R_{II} = —NH_2$, $R_{III} = —NH_2$, C=NH in 6-Stellung)

Gruppe D: 3-Phenyl-4-amino-5-methyl-2-thiouracil:



Gruppe E: 5-Amino-2-thiobarbitursäure.

Methodik.

Die Herstellung des Reagens sowie die Ausführung der Farbreaktion wurden in der an anderer Stelle[1] angegebenen Weise durchgeführt und die Messung der Extinktion ausschließlich mit dem Pulfrich-Stufenphotometer bei einer Schichtdicke von 20 mm vorgenommen. Die Absorptionskurven nahmen wir jeweils mit 0,00015-molaren Lösungen der betreffenden Substanzen unter Vorschaltung der am Pulfrich-Photometer zur Verfügung stehenden Filter auf. Zur Ermittlung der

* Für die Synthese und Überlassung der untersuchten Substanzen sei auch an dieser Stelle den Firmen C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim a. Rh.; Kali-Chemie A. G., Sehnde; Knoll A. G., Ludwigshafen a. Rh. und Schering A. G., Berlin gedankt.

** 2-Thiouracil = 2-Mercapto-6-oxy-pyrimidin.

Gültigkeit des LAMBERT-BEERschen Gesetzes wurden jeweils die Extinktionen bei den Konzentrationen 0,00005, 0,0001, 0,00015, 0,0002, 0,00025 und 0,0003 mol. mit dem Filter S 66 (wirksamer Filterschwerpunkt 660 mμ) abgelesen. Diese Lösungen wurden durch entsprechende Verdünnung von 0,01-molaren Stammlösungen hergestellt. Die Substanzen wurden vorher bei 60° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann eingewogen.

Ergebnisse.

Abb. 1 a—c geben die Absorptionsspektren des Farbstoffes wieder, der bei Reaktion der verschiedenen untersuchten Thiouracilabkömmlinge mit dem modifizierten Reagens nach GROTE entsteht.

Nach Abb. 1 a liegt das Maximum der Absorption für 2-Thiouracil, 4-Methyl-2-thiouracil und 4-Propyl-2-thiouracil im roten Spektralbereich bei 660 mμ (Filter S 66). Die Extinktion von 2-Thiouracil ist fast im gesamten Verlauf der Kurve, besonders deutlich jedoch am Maximum, geringer als die der beiden Monoalkylderivate.

Abb. 1 b läßt erkennen, daß von den untersuchten Aminoderivaten des 2-Thiouracil lediglich das 4-Amino-2-thiouracil bei 660 mμ maximal absorbiert. Die Absorption dieser Verbindung ist hier stärker als die des 2-Thiouracil, des 4-Methyl- und 4-Propyl-2-thiouracil. Alle übrigen von uns geprüften Aminothiouracile sind zusätzlich in 5-Stellung alkyliert. Das Absorptionsmaximum des mit dem Reagens in diesen Fällen entstehenden Farbstoffes ist nach dem langwelligen Rot verschoben, die größte Absorption dieser Stoffe liegt bei 720 mμ, dem wirksamen Schwerpunkt des Filter S 72. In diese Gruppe gehört auch das 4-Amino-5-benzyl-2-thiouracil. In der Abbildung fehlt die Kurve des 3-Phenyl-4-amino-5-methyl-2-thiouracil, das zwar ebenfalls in 4-Stellung aminiert und in 5-Stellung alkyliert ist, jedoch in 3-Stellung zusätzlich einen Benzolring trägt. Diese Verbindung gibt mit dem Reagens keine Farbreaktion.

Die 3 noch verbleibenden Substanzen besitzen im Gegensatz zu den anderen untersuchten farblosen Verbindungen charakteristische Eigenfarben. Das 4,5-Diamino-2-thiouracil ist ockerfarben, das 4,5-Diamino-6-imino-2-thiouracil gelb und die 5-Amino-2-thiobarbitursäure fleischfarben. Die Eigenfarbe ist selbst in großer Verdünnung noch so intensiv, daß sie die Farbreaktion mit dem Reagens überdeckt. Die *quantitative* Bestimmung dieser Stoffe ist deshalb mit der angegebenen kolorimetrischen Methode *nicht* durchführbar. Als Beispiel ist in Abb. 1 c die Absorptionskurve von 4,5-Diamino-2-thiouracil wiedergegeben.

Die Prüfung von steigenden molaren Konzentrationen der obengenannten Verbindungen mit dem Reagens ergab, daß die Intensität des entstehenden Farbstoffes der Konzentration direkt proportional ist, d. h. die Reaktion folgt in den aus Abb. 2 zu entnehmenden molaren Konzentrationsbereichen dem LAMBERT-BEERschen Gesetz. Es ist somit möglich, mit der von uns an anderer Stelle ausführlich beschriebenen Methode[1]

außer den Alkylderivaten 4-Methyl- und 4-Propyl-2-thiouracil die oben genannten Aminoderivate des 2-Thiouracil quantitativ zu bestimmen. Sicher ungeeignet für den quantitativen Nachweis mit dem Reagens sind

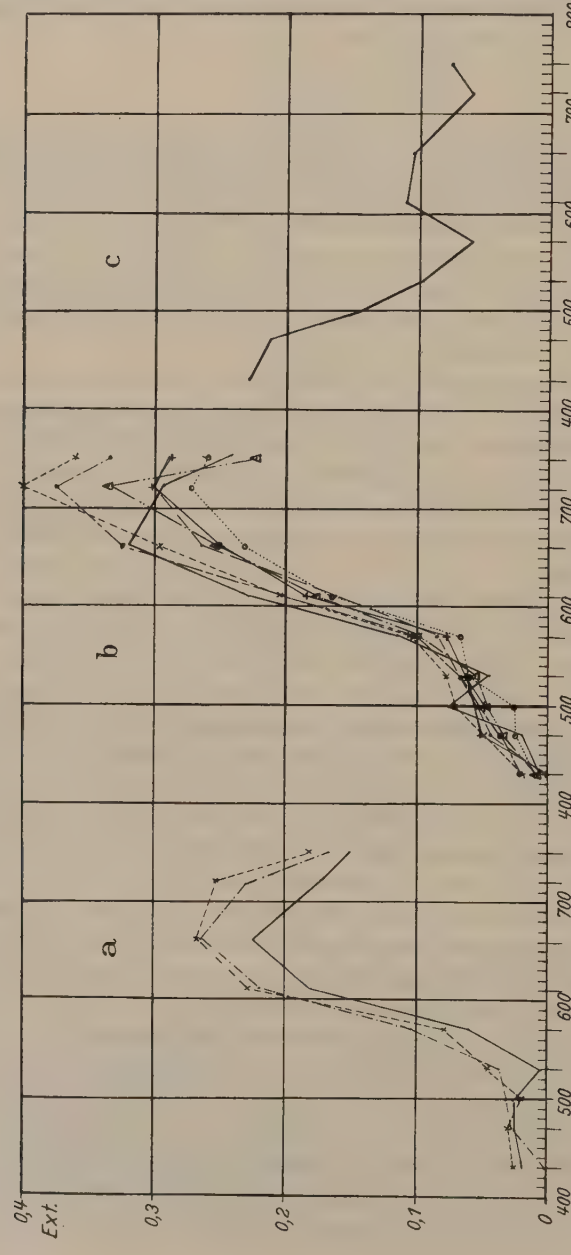


Abb. 1a – c. Absorptionsspektren verschieden substituierter Thiouracile mit Grotes Reagens 0,00015 molare Lösungen, 20 mm Schichtdicke. Ordinate: Extinktion. Abszisse: Wellenlängen in mμ mit eingetragenen wirksamen Filterschwerpunkten. a) ·——— · 2-Thiouracil; ×—— × 4-Methyl-2-thiouracil; ·—·—· 4-Propyl-2-thiouracil. b) ·——— · 4-Amino-2-thiouracil; ·—·—· 4-Amino-5methyl-2-thiouracil; ⊙ ····· ⊙ 4-Amino-5-äthyl-2-thiouracil; ×—·—·—× 4-Amino-5-n-propyl-2-thiouracil; A—· ·—A 4-Amino-5-isopropyl-2-thiouracil; +———+ 4-Amino-5-butyl-2-thiouracil; ·—·—· 4-Amino-5-benzyl-2-thiouracil. c) ·—·, 4,5-Diamino-2-thiouracil.

jene Verbindungen mit starker Eigenfarbe, von denen die Konzentrationskurve des 4,5-Diamino-2-thiouracil in Abb. 2 dargestellt ist.

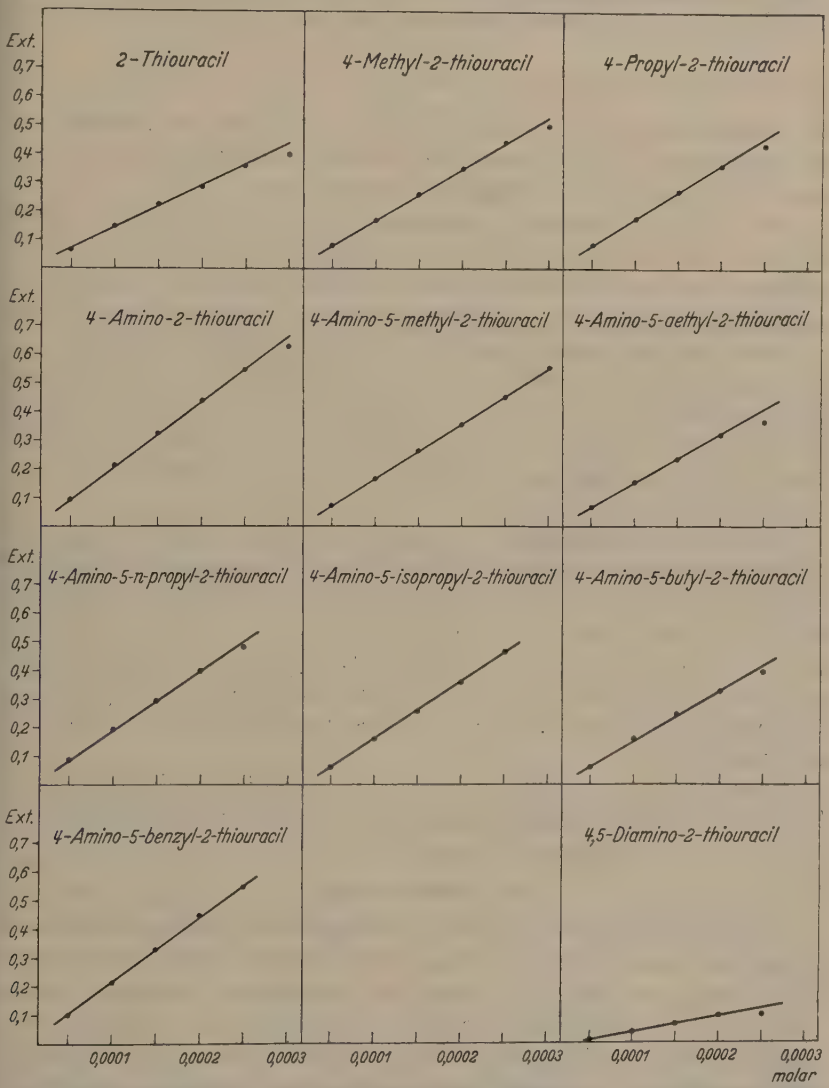


Abb. 2. Konzentrationskurven verschieden substituierter Thiouracile mit GROTEs Reagens. Molare Konzentrationen von 0,00005—0,0003. 20 mm Schichtdicke. Filter S 66. Ordinate: Extinktion Abszisse: Molare Konzentrationen.

Besprechung der Ergebnisse.

Den vorstehenden Untersuchungen ist zu entnehmen, daß alle geprüften Verbindungen mit Ausnahme des 3-Phenyl-2-amino-5-methyl-2-thiouracil mit dem modifizierten GROTEschen Reagens eine Farbreaktion

geben, die für die photometrische Bestimmung dieser Stoffe geeignet ist. Diese Ausnahme wird wahrscheinlich dadurch bedingt sein, daß bei Substitution des Wasserstoffatoms am Stickstoffatom ③ eine Tautomerie

$$-N=C-$$
$$\quad\;|$$
$$\quad SH$$

zur Gruppierung nicht mehr möglich ist. Das Wasserstoffatom am Stickstoffatom ① dürfte dagegen durch eine analoge Tautomerie mit dem Kohlenstoffatom ⑥ weitgehend festgelegt sein.

Die in 4- und 5-Stellung aminierten Verbindungen besitzen ebenso wie die 5-Amino-2-thiobarbitursäure eine kräftige Eigenfarbe. Die Farbreaktion tritt, wie am Beispiel des 4,5-Diamino-2-thiouracil gezeigt wird, zwar ein, wird jedoch von der Eigenfarbe so überdeckt, daß sie nicht zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe herangezogen werden kann.

Die Einführung einer Methyl- oder Propylgruppe in die 4-Stellung des Thiouracilmolekül bewirkt keine mit dem Stufenphotometer meßbare Verschiebung der Absorption. Wohl aber kommt es zu einer Zunahme der Extinktion des entsprechenden Farbstoffes. Die Einführung einer Aminogruppe in 4-Stellung wirkt in gleicher Richtung.

Enthält das Molekül neben der in 4-Stellung befindlichen Aminogruppe außerdem in 5-Stellung noch einen Alkylrest, so tritt eine deutliche, mit dem Stufenphotometer meßbare Absorptionsverschiebung zum langwelligen Bereich im Sinne einer Farbvertiefung auf. Darüber hinaus kommt es zu einer zum Teil erheblichen Erhöhung der Extinktion des Farbstoffes.

Diese Erscheinung ist auch dann zu beobachten, wenn in dem in 5-Stellung befindlichen Alkylrest ein Wasserstoffatom durch ein Benzolring ersetzt ist.

Abschließend kann festgestellt werden, daß die Kombination einer Aminogruppe in 4-Stellung mit einem Alkylrest in 5-Stellung im Sinne einer stark bathochromen Gruppe wirkt.

Zusammenfassung.

Die Absorptionsspektren der bei Reaktion verschiedener Thiouracilderivate mit dem modifizierten Reagens nach Grote entstehenden Farbstoffe werden mit dem Pulfrich-Stufenphotometer gemessen und in geeigneten Konzentrationsbereichen die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes gezeigt. Die meisten der untersuchten Verbindungen erweisen sich für die quantitative Bestimmung mittels der benutzten Methode als geeignet. Art und Stellung der Substituenten im Grundmolekül verändern die Farbreaktion oder können sie sogar verhindern.

Literatur.

[1] Doden W., u. R. Kopf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 51 1951). — [2] Grote, J. W.: J. biol. Chem. **93**, 25 (1931). — [3] Ley, H. u. H. Specker: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 192 (1939).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 473—484 (1951).

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der DIWAG Chemische Fabriken G.m.b.H. Hann. Münden.

Pharmakologie eines halogenierten Antihistaminkörpers. (Hibernon).

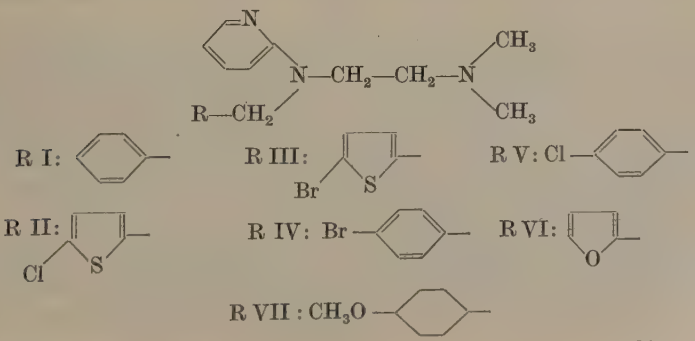
Von

KARL CREDNER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Februar 1951.)

Über die pharmakologischen und klinischen Eigenschaften des N′-dimethylaminoäthyl-N-benzyl-α-aminopyridin (R I) berichteten erstmals MAYER u. Mitarb. in Amerika[1–7]. Diese Verbindung bewährte sich in der Klinik bei allergischen Erkrankungen als symptomatisch wirkendes Medikament. 1947 beschrieb CLAPP[8] die chemische Darstellung von halogenierten Thenylverbindungen des Äthylendiamins (R II, R III), die von LITCHFIELD, ADAMS, GODDARD, JEGER und ALONSO[9] pharmakologisch geprüft wurden. Die Halogensubstitution der Thenylene erbrachte in Versuchen am isolierten Darm eine Steigerung der Antihistaminwirksamkeit bei gleichzeitiger Verringerung der Toxizität. LITCHFIELD bezog in seine Untersuchungen das bromsubstituierte N′-dimethylaminoäthyl-N-benzyl-α-aminopyridin (R IV) mit ein; die nur kurz angedeuteten Ergebnisse wiesen darauf hin, daß auch mit der Halogenierung des Benzylringes Verbesserungen gegenüber dem halogenfreien Grundkörper zu erzielen waren. 1948 wurden unabhängig davon in den wissenschaftlichen Laboratorien der DIWAG verschiedene Derivate des N′-dimethylaminoäthyl-α-aminopyridin dargestellt: das p-Brombenzyl-Produkt, Versuchsnummer 502, (R IV) (Hibernon) und das N′-Dimethylaminoäthyl-N-furfuryl-α-aminopyridin (R VI), von dem insbesondere das erste einer eingehenden pharmakologischen Prüfung unterzogen wurde.



1949 veröffentlichte in der Schweiz Domenjoz[10] die Ergebnisse pharmakologischer Untersuchungen mit dem chlorsubstituierten N′-Dimethylaminoäthyl-N-benzyl-α-aminopyridin (R V), er konnte dabei ebenfalls eine Wirksamkeitssteigerung gegenüber der nicht halogenierten Ausgangssubstanz (R I) feststellen. Die Austestung von R IV und R VI im Vergleich mit R I am isolierten Darm nach der Methode von Schild[11] wurde 1950 von Alberty angegeben[12]. Er fand, daß die A. H.-Wirksamkeit von R VI gleich der von R I war, dagegen zeigte R IV eine erhebliche Steigerung gegenüber R I. Unter Berücksichtigung der Versuchsanordnung von Schild wurde die Wirkung von 1 Mol Histamin aufgehoben durch 0,54 Mol R I bzw. durch 0,15 Mol R IV. Die bromsubstituierte Verbindung wirkte somit am isolierten Darm ungefähr 3mal stärker histaminhemmend als der nichthalogenierte Grundkörper. Diese Befunde von Alberty, die eindeutig eine verstärkte Wirksamkeit von R IV gegenüber R I ergeben, widerlegen die von Vaughan u. Mitarb.[13] mittels der Histaminärosol-Methode gewonnenen Ergebnisse, nach denen der histaminhemmende Effekt beider Pharmaka gleich stark sein soll.

Bestimmung der Toxizität.

Die akute Toxizität der verschiedenen Substituenten wurde intravenös, subkutan und peroral an Mäusen bestimmt und mit den bereits in der Literatur vorliegenden, von Mayer[2] und Loew[14] ermittelten Daten verglichen (Tab. 1).

Tabelle 1. *Akute Toxizität.*
Versuchstier: Maus.

	peroral		subkutan		intravenös		intraperitoneal	
	LD 50 mg/kg	Zahl der Tiere	LD 50 mg/kg	Zahl der Tiere	LD 50 mg/kg	Zahl der Tiere	LD 50 mg/kg	Zahl der Tiere
N′-Dimethyl-amino-äthyl-N-benzyl-α-aminopyridin R I	210 (3)		75 (2) 70*	64	12 (13) 11,3*	32	62 (9)	
Furfuryl-α-pyridyl-dimethyl-amino-äthylamin R VI			110*	36				
Hibernon R IV	688*	36	210*	64	30*	56	160 (9)	

Eingeklammerte Zahl = Literatur; Zahl mit * = Eigene Untersuchungen.

Der Ersatz des Benzylringes durch den Furanring führt bereits zu einer Abnahme der Giftigkeit; der in der Phenylgruppe bromsubstituierte Körper liegt jedoch noch günstiger, er besitzt eine wesentlich geringere Toxizität als der Grundkörper. Diese Verringerung der Toxizität zusammen mit der von Alberty[12] nachgewiesenen Wirkungssteigerung der Antihistamineigenschaften ist für die klinische Anwendbarkeit dieser Körper von ausschlaggebender Bedeutung.

Das allgemeine Vergiftungsbild des N′-dimethyl-aminoäthyl-N-benzyl-α-aminopyridin, des R IV und R VI, sieht ziemlich gleichartig aus, es läßt sich am besten nach einer subkutanen Injektion studieren: Die Tiere werden wenige Minuten

nach der Injektion unruhig und zeigen das für Vergiftungen aller Art typische Schwanzphänomen des steil in die Höhe gereckten Schwanzes. Nach 10—20 min treten bei Verabfolgung toxischer Dosen schwerste tonisch-klonische Krämpfe auf, zeitweilig springen die Tiere in großen Sätzen im Käfig umher, dann wiederum liegen sie längere Zeit auf der Seite oder auf dem Rücken, wobei sie ständig Laufbewegungen machen. Die Atmung ist stark beschleunigt und geht allmählich in Krampfatmung über. Kurz vor dem Exitus, der meist in der Zeit von 15—90 min nach der Injektion erfolgt, liegen die Tiere auf der Seite mit jetzt stark verlangsamter Atmung. Sie führen dabei einzelne tiefe, schnappende Atemzüge aus, der Tod tritt infolge Atemstillstand ein. Überstehen die Tiere die ersten 90—100 min nach der Injektion, so kommen sie fast immer mit dem Leben davon. Die Krämpfe lassen allmählich nach und nach 120 min machen die Überlebenden noch einen mitgenommenen Eindruck. Nacherkrankungen oder Spättodesfälle gelangten nicht zur Beobachtung.

Die Substanzen wirken somit an den Mäusen zentral erregend, während beim Menschen fast alle Antihistaminica sedativ wirken. Meerschweinchen bieten ein analoges Vergiftungsbild wie die Mäuse; auch hier stehen die tonisch-klonischen Krämpfe im Vordergrund, die fast bis zum Exitus andauern.

Die *chronische Toxizität* wurde an 12 Mäusen geprüft, die 5 Wochen lang 5mal wöchentlich je 20 mg/kg Hibernon subkutan verabfolgt bekamen. Vor der Behandlung, alle 8 Tage und nach Beendigung des Versuches wurden Leukozyten, Erythrozyten und das Blutbild untersucht; außerdem wurden die Tiere täglich gewogen. Irgendwelche äußerlich erkennbaren Symptome für eine Vergiftung ließen sich bei dieser Dosierung nicht beobachten.

Es traten keinerlei nachweisbare Veränderungen des Blutbildes auf. Ein schädigender Einfluß auf die Bildungsstätten der Blutkörperchen war nicht erkennbar. Die Zahl der roten Blutkörperchen blieb konstant, die Leukozyten zeigten im Durchschnitt eine Zunahme von 26%, die absoluten Zahlen bewegten sich im allgemeinen noch innerhalb der für Mäuse normalen Werte. Aus den Gewichtskurven war ersichtlich, daß einige Tiere abgenommen, einige dagegen zugenommen hatten. Der Durchschnitt der Gewichtskurven aller Tiere ergab am Ende des Versuches eine Abnahme von 7%; stärkere Gewichtsstürze, wie sie kürzlich von Bunse[15] an Kaninchen nach 2—3tägiger Gabe von 50 mg pro Tier verschiedener Antihistaminica beschrieben wurden, gelangten nicht zur Beobachtung.

Verhinderung des tödlichen Histaminschockes.

0,5 mg/kg Histamin, Meerschweinchen intrakardial injiziert, lösen bei ungefähr 50% der Tiere einen tödlichen Histaminschock aus. Diese Befunde decken sich mit kürzlich veröffentlichten Angaben von Linder[16], der die LD 50 für intrakardial verabfolgtes Histamin mit 0,57 mg/kg bestimmte. Durch Festlegung der Minimaldosis eines Antihistaminicum, die, prophylaktisch verabfolgt, noch in der Lage ist, die Tiere hundertprozentig vor der Wirkung von 0,5 mg/kg Histamin zu schützen, läßt sich ein genauer Anhalt für die Stärke der histaminhemmenden Eigenschaften eines A. H.-Körpers gewinnen. In der Literatur finden sich bei Landau,

Harriot und Gay[17] die mit dieser Methodik erhaltenen Zahlen für einige der bekannteren Antihistaminica. Die für das Hibernon ermittelten Werte im Vergleich mit den Zahlen von Landau sind aus der Tab. 2 ersichtlich einschließlich näherer Einzelheiten der Auswertung. Das bromsubstituierte Produkt steht hinsichtlich der Stärke seiner histaminhemmenden Eigenschaften bei dieser Versuchsanordnung an der Spitze der aufgeführten Antihistamincia.

Tabelle 2. *Beeinflussung der Wirkung intrakardial verabfolgten Histamins durch* HIBERNON bei Meerschweinchen.

Histamin mg/kg	Antihistaminicum	mg/kg	Zahl der überleb. Tiere	Zahl der gestorb. Tiere	Zahl der Tiere im Versuch	100% schützende Dosis
0,5	°Hibernon	—	5	5	10	
0,5	„	0,005	8	2	10	
0,5	„	0,01	10	—	10	0,01 mg/kg
1,2	„	—	—	5	5	
1,2	„	0,0125	—	10	10	
1,2	„	0,025	5	5	10	
1,2	„	0,0375	10	—	10	
0,5	* R III					0,05 mg/kg
0,5	* R I					0,04 mg/kg
0,5	° R I					0,03 mg/kg
0,5	* R VII					0,02 mg/kg

* Nach Angaben von S. W. Landau[17], ° Eigene Untersuchungen.

Bei Durchführung der Versuche wurde jedes verendete Tier sofort seziert. Fanden sich Blutungen im Brustraum, so wurden diese Tiere nicht mitgewertet, da der Exitus aus methodischen Gründen erfolgt sein konnte.

Beeinflussung der blutdrucksenkenden Histaminwirkung durch Hibernon.*

Die Prüfung zur Beeinflussung der depressorischen Histaminwirkung wurde an Katzen und Hunden vorgenommen, die mit Pernocton 0,8 cm³/kg der 10%igen Lösung ad usum veterinarium narkotisiert worden waren. Die Registrierung des Blutdruckes erfolgte blutig in der arteria femoralis, die Injektionen wurden in die vena jugularis gegeben.

Hibernon wirkt auch im Blutdruckversuch an Katzen und Hunden als Histaminantagonist, da es den Effekt von intravenös verabfolgtem Histamin abschwächt oder aufhebt. Diese hemmende Wirkung auf die durch Histamin ausgelöste Blutdrucksenkung klingt insbesondere dann bald ab, wenn geringe, therapeutischen Dosen entsprechende Mengen des A. H.-Körpers verwandt werden. Werden beispielsweise nach einer Verabfolgung von 0,5 mg/kg Hibernon intravenös laufend alle 5 min die gleichen Histaminmengen injiziert, so ist die Histaminhemmung bei der

* Die Versuche wurden im pharmakologischen Institut der Universität Göttingen durchgeführt. Ich danke Herrn Prof. Lendle auch an dieser Stelle für die freundlichst zur Verfügung gestellte Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut.

ersten, auf die A. H.-Gabe folgenden Histamininjektion am stärksten; allmählich nimmt dann mit jeder Injektion die Wirksamkeit des Histamins zu und erreicht nach 30—40 min ein Maximum, das jedoch nicht an die Werte heranreicht, die mit der gleichen Dosis Histamin vor der A.H.-Gabe

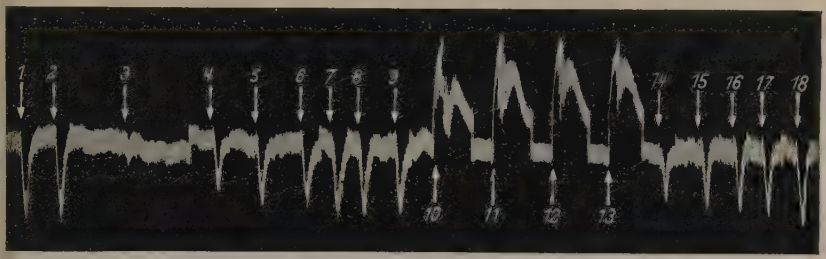


Abb. 1. *Beeinflussung der depressorischen Histaminwirkung durch Hibernon und Adrenalin.* Katze, 2,6 kg. Pernoctonnarkose; Blutdruckregistrierung in der arteria femoralis, Injektion in die vena jugularis. 1., 2., 4., 5., 6., 7., 8., 9., 14., 15., 16., 17., 18. = je 10 γ Histamin im Abstand von 5 min. 3. = 0,5 mg/kg Hibernon. 10., 11., 12., 13. = je 10 γ Adrenalin.

erzielt wurden; meist betragen sie nur 80% der Ausgangswerte (Abb. 1). Aber auch bei Verwendung größerer Dosen des Antihistaminicum tritt die gleiche Erscheinung auf, so daß infolge dieser schnellen Änderung der Reaktionslage am selben Tier die Hemmung verschieden großer Histamindosen nicht miteinander in Beziehung gesetzt werden kann. Wertet man aber die Reaktionen bestimmter Dosen Histamin genau 5 min nach der Injektion von 0,5 mg/kg Hibernon, wie sie in Versuchen an verschiedenen Tieren gewonnen wurden, und berechnet das Verhältnis ihrer Wirkungsstärke zum Effekt der gleichen Histamindosis vor der Gabe von Hibernon, so erhält man bei den einzelnen Versuchen einigermaßen konstante, nur wenig voneinander abweichende Werte, die jeweils für bestimmte Dosen Histamin übereinstimmende, charakteristische Zahlen ergeben (Abb. 2). Diese Zahlen erlauben es, die histaminhemmenden Eigenschaften des Hibernon kurvenmäßig darzustellen und sie zu anderen Antihistaminica in Beziehung zu

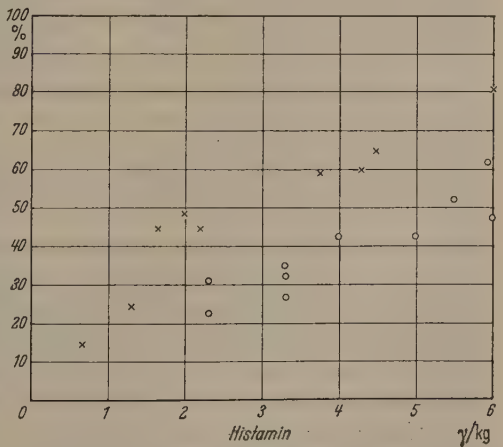


Abb. 2. *Histaminhemmung durch 0,5 mg/kg Hibernon am Katzenblutdruck ausgedrückt in Prozent gegenüber der vollen Histaminwirksamkeit ohne Hibernon = 100%.* Abszisse: Histamin γ/kg. Ordinate: Prozentuale Wirksamkeit des Histamin nach Hibernon. × = Histaminwirkung nach Hibernon allein. O = Histaminwirkung nach Hibernon und Adrenalin. Jeder Punkt der Kurve entspricht einem Versuch.

setzen. Hibernon selbst löst bei intravenöser Injektion in den verwandten Dosen von 0,5 mg/kg meist eine geringfügige Blutdrucksenkung aus, welcher oftmals ein leichter protrahierter Blutdruckanstieg folgt. Größere Dosen rufen stets eine länger dauernde, stärkere Blutdrucksenkung hervor.

Eine Verstärkung der pressorischen Adrenalinwirkung durch Hibernon konnte nicht beobachtet werden. Dasselbe berichtete Domenjoz von dem N′-Dimethylaminoäthyl-N-p-chlor-benzyl-α-aminopyridin. Die Untersuchung der Adrenalin-Blutdruckwirkung vor und nach der A. H.-Injektion führte uns zu einem bemerkenswerten Ergebnis: Die Prüfung der histaminhemmenden Wirkung einer bestimmten Dosis des Antihistaminicum wurde in der bereits beschriebenen Weise vorgenommen. Nach 30—40 min, nachdem die Histaminwirkung wieder etwa 80% ihres Ausgangswertes erreicht hatte, erhielten die Versuchstiere 3—4mal 7,5—10 γ Adrenalin i. v. Wurde nunmehr Histamin nach demselben Turnus wie nach der A. H.-Injektion verabfolgt, so ließ sich wieder eine deutliche Hemmung der Histaminwirkung beobachten, die bei der ersten Histamin-Reinjektion am stärksten war. Mit jeder Injektion der gleichen Histamindosis nahm die Reaktion erneut zu, um nach 20—30 min, manchmal auch noch später, einen konstanten Wert zu erreichen. Die so erhaltene Kurve glich weitgehend der nach der Injektion des Antihistamins direkt erhaltenen (Abb. 1). Zur Kontrolle, ob nach denselben Dosen Adrenalin allein bereits die Kurve der Histaminwirkung einen ähnlichen Verlauf nimmt, wurde eine bestimmte Menge Histamin 3—4mal vor und dann nach 4 Adrenalin-Injektionen von 7,5—10 γ — jedoch ohne vorhergehende A. H.-Injektion — gegeben. Histamin löste dabei nach Adrenalin einen annähernd gleichartigen Effekt aus wie vor der Adrenalin-Injektion. In einigen Versuchen sahen wir dabei eine geringfügige Abschwächung, die sich aber bei den folgenden Histamin-Injektionen nicht verstärkte, wie es nach der Adrenalin- und vorausgegangener A. H.-Injektion der Fall war. Eine wesentliche Beeinträchtigung der Histaminwirkung durch mehrere Dosen Adrenalin allein ohne Antihistaminicum schied somit aus, so daß die erneute Reduzierung der Histaminwirkung nach Adrenalin bei vorausgegangener A. H.-Applikation auf eine Wirkungsverstärkung der Histaminhemmung hinweist.

Sie kann auch noch mit einer veränderten Versuchsanordnung eindrucksvoll dargestellt werden: Gleichzeitig mit der Injektion von 0,5 mg/kg Hibernon oder unmittelbar anschließend gaben wir 7,5—10 γ Adrenalin intravenös. Genau 5 min nach der A. H.-Verabfolgung und nach Abklingen der pressorischen Adrenalinwirkung bestimmten wir wiederum den Histaminausschlag. Die für diesen Effekt im Vergleich mit derselben Histamindosis vor Hibernon und Adrenalin in Prozenten ausgedrückten Werte lagen in mehreren Versuchen wesentlich unter den Zahlen, die mit Histamin vor und nach Hibernon erhalten werden konn-

ten. Aus der Kurve, die die gesamten Meßergebnisse und 5 min-Werte für die Histaminhemmung enthält, geht diese Differenz zwischen Hibernon allein und Hibernon mit Adrenalin besonders deutlich hervor. Diese Verstärkung der Histaminhemmung ließ sich in zahlreichen Versuchen an Katzen und — weniger deutlich, aber stets erkennbar — auch an Hunden, manchmal in wechselnder Stärke, demonstrieren.

Antihistaminica und Endotoxin.

Einige neuere Arbeiten über „Die Wirkungsweise der bakteriellen Endotoxine" von Delauney[18] u. Mitarb. waren der Anlaß für Versuche, die feststellen sollten, ob ein Antagonismus zwischen einem Antihistaminicum und dem Ablauf der Endotoxinvergiftung besteht.

Die bakteriellen Endotoxine unterscheiden sich von den Ektotoxinen dadurch, daß sie fester mit der Zellstruktur bzw. dem Protoplasma des Bakteriums verbunden sind und erst nach Zerstörung des Zelleibes in größerer Menge gewonnen werden können. Sie finden sich, von einigen Ausnahmen abgesehen, bei gramnegativen Keimen. Die Chemie der Endotoxine wurde vor allem durch Boivin aufgeklärt. Es handelt sich bei ihnen um eiweißfreie, thermostabile Komplexe, die sich aus Polysacchariden und Fettsäuren zusammensetzen, sogenannten Glukolipoiden; sie unterscheiden sich damit chemisch eindeutig von den thermolabilen Ektotoxinen, die hochmolekulare Eiweißkörper sind. Die von den verschiedenen gramnegativen Keimen produzierten Endotoxine lösen stets dasselbe, etwas eigentümliche Vergiftungsbild aus. Als konstantes Frühsymptom ist bereits 30 min nach der parenteralen Applikation eine charakteristische Leukopenie beim Versuchstier zu beobachten, die vor allem die Lymphozyten betrifft und nie in eine sekundäre Leukozytose umschlägt. Gleichzeitig setzt ziemlich früh eine Hyperglykämie ein, die nach 4—5 Std in eine Hypoglykämie übergeht. Allmählich nach Stunden entwickeln sich auch äußerlich erkennbar Allgemeinsymptome wie Apathie, verminderte Freßlust, Durchfälle, je nach Tierart verschieden, beschleunigte oder verlangsamte Atmung und Anstieg der Körpertemperatur. Ferner sind mikro- und makroskopisch bei den mindest 12 Std nach Endotoxin-Injektion verendeten Tieren Blutungen in Schleimhäuten, wobei insbesondere der Magen-Darmtrakt betroffen ist, und der Nebennierenrinde nachweisbar neben Transsudaten in serösen Körperhöhlen. Delauney u. Mitarb. richteten ihr Augenmerk bei der Endotoxinvergiftung auf regulatorisch vegetative Vorgänge, sie fanden ein Absinken der Hauttemperatur, verbunden mit peripherer Blutleere. Kapillarmikroskopisch beobachteten sie das Einsetzen periodisch alternierender Konstriktionen und Dilatationen der Arteriolen und Präkapillaren. Die entzündlich nekrotischen Veränderungen der verschiedenen Organe wurden daher von den Autoren als Folge dieser Durchblutungsstörungen gedeutet. Roberts[19] konnte bei Verwendung der Trypan-Blau-Methode nach Menkin histologisch keine Anzeichen entdecken, die auf eine erhöhte Kapillarpermeabilität infolge der Endotoxinvergiftung hinwiesen. Er ist der Meinung, daß die pathologisch anatomischen Befunde auf eine Hypertension der terminalen Strombahnen zurückzuführen sind. Die Veränderungen, die sich bei einer Endotoxinvergiftung im Blut vollziehen, besitzen eine weitgehende Ähnlichkeit mit allergischen bzw. anaphylaktischen Vorgängen, da hierbei analoge Reaktionen auftreten können. Die Endotoxinvergiftung ließe sich ohne weiteres als eine Allergose endogener Ursache auffassen, wobei die Sensibilisierung durch Toxine der obligaten Darmkeime erfolgt sein könnte. Delauney[18] u. Mitarb. vertreten daher die Ansicht, daß der auslösende Mechanismus beider Vorgänge auf verwandten Prozessen beruhe.

Sie stellen die Hypothese auf, daß das Endotoxin bei seinem Zusammentreffen im Organismus mit bestimmten Geweben fermentartig gefäßaktive Substanzen vom Typ des Histamin oder Sympathin freimacht, ähnlich wie das Renin bei Inkubation mit Plasma oder Serum aus einer unwirksamen Vorstufe, dem Hypertensinogen, einen kleinmolekularen, pharmakologischen Wirkstoff, das Hypertensin, bildet. Eine Beeinflussung der Endotoxin-Toxizität gelang bisher Levaditi[20] mit Sulfonamiden. In vitro konnte er keinen Antagonismus feststellen, nur in vivo erreichte er durch die sich über mehrere Tage erstreckende Verabfolgung von bestimmten Sulfonamiden eine Verhinderung des tödlichen Ausganges der Endotoxin-Vergiftung. Tietz[21] stellte später fest, daß die gleichzeitige Sulfonamidgabe bei einer Endotoxinvergiftung die Ausbildung einer pathologischen Darmflora verhinderte.

Das Endotoxin wurde nach der Methode von Boivin u. Mitarb. gewonnen: 24stündige Traubenzucker-Agar-Kulturen von Koli werden mit 0,9%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt, zentrifugiert und 2mal gewaschen. Etwa 200 mg Bakteriensubstanz werden nunmehr mit 1 cm^3 2/n Trichloressigsäure versetzt; der Trichloressigsäure-Ansatz gelangt 3—4 Std bei 2—4° in den Eisschrank, anschließend wird er zentrifugiert und filtriert. Bei diesem Aufarbeitungsgang mit Trichloressigsäure lassen sich die in verschiedenen Kolistämmen bisweilen gleichzeitig vorkommenden Ektotoxine völlig entfernen, da sie als hochmolekulare Eiweißkörper ausgefällt werden.

Als Versuchstiere dienten Mäuse im Gewicht von 20—30 g, die das Endotoxin meist i. v., in einigen Fällen auch intraperitoneal injiziert bekamen. Für die ersten Versuche benutzten wir neutralisierten Trichloressigsäure-Rohextrakt, später gelangte stets eine Endotoxinlösung zur Anwendung, die zur Eluierung der Trichloressigsäure 24 Std gegen fließendes Wasser dialysiert worden war. Die Mäuse teilten wir in 2 Gruppen zu je 46 Tieren ein. Die Tiere der ersten Gruppe erhielten nur Endotoxin, die Tiere der zweiten Gruppe zunächst 5 mg/kg Hibernon subkutan und nach 30 min das Endotoxin zusammen mit 5 mg/kg Hibernon, nach 4—8 Std erneute Verabfolgung der gleichen Dosis Hibernon s. c., die nun noch weiter 5 Tage lang 3mal täglich wiederholt wurde.

Von den 46 Mäusen, die Endotoxin allein erhalten hatten, starben in den auf die Injektion folgenden Tagen 25 Tiere, davon die Mehrzahl bereits innerhalb von 24 Std. Von den dagegen zusätzlich mit Hibernon behandelten Tieren starben nur 3 Tiere und 43 blieben am Leben. — In Aussehen und Verhalten zwischen den mit und ohne Hibernon behandelten Mäusen ließ sich ein deutlicher Unterschied feststellen, der noch nach etwa 10—12 Tagen zu beobachten war. Die ohne Hibernon, nur mit Endotoxin behandelten Tiere zeigten ein struppiges Fell, zusammengekniffene Augen und machten einen ausgesprochen kranken, mitgenommenen Eindruck. Sie lagen lange Zeit matt und schwach in ihren Käfigen, verweigerten in den meisten Fällen in den ersten Tagen die Nahrungsaufnahme und bewegten sich müde und schleppend. Der Stuhl war nach der Endotoxin-Injektion breiig und nicht geformt. Die gleichzeitig mit Hibernon behandelten Mäuse dagegen ließen erkennen, daß die Endotoxinvergiftung in wesentlich gemilderten Bahnen verlief. Am Tag nach der Injektion war das Fell bereits wieder geglättet, die Tiere wiesen

ein annähernd normales Verhalten auf und fraßen wieder. Der Stuhl war fest und geformt. Eine geringe Mattigkeit der Tiere verschwand im Verlaufe weniger Tage und am 4. Tag nach der Endotoxin-Injektion war diesen Tieren nichts Außergewöhnliches mehr anzumerken. Hibernon ist somit in der Lage, ähnlich wie die Sulfonamide, das Endotoxin in vivo zu entgiften.

Wir versuchten gleichzeitig, an Mäusen zu verfolgen, ob Hibernon, das die Mortalität nach einer Endotoxingabe beeinflußt, auch eine Einwirkung auf die typische Leukopenie ausübt. In Kontrollversuchen ergab sich jedoch, daß die häufigen Blutentnahmen an dieser kleinen Tierart keine befriedigenden Ergebnisse zeitigten. Wir prüften daher den Einfluß des Hibernon auf die Leukozyten an Kaninchen. Die Tiere erhielten für diese Versuche nichttödliche Endotoxindosen, die jedoch bereits charakteristische Veränderungen auszulösen vermochten. Die typische Leukopenie konnte durch die Injektion des Antihistaminicum nicht beeinflußt werden.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Der Wirkungsmechanismus für die Verstärkung der Histaminhemmung durch Adrenalin läßt sich an Hand des vorliegenden Materials nicht ohne weiteres deuten. Es können darüber gegenwärtig nur einige Erwägungen angestellt werden, die vielleicht einen Hinweis zu geben vermögen, wie dieser Frage experimentell näher zu kommen ist.

Adrenalin ist eine außerordentlich reaktionsfähige, chemisch sehr labile Substanz, die bereits bei geringen p_H-Verschiebungen oxydative Veränderungen erleidet und dadurch reduzierend wirkt. Die nur kurze Wirkungsdauer des Adrenalin im Organismus ist auf seine rasche fermentative Zerstörung zurückzuführen. Es ließe sich daher die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß Adrenalin im Moment seines Abbaues vielleicht katalytisch bereits unwirksam gewordenes Antihistamin wieder in effektive Form zurückverwandeln könnte. Gegen eine solche Annahme spricht insbesondere die geringe Menge Adrenalin, die für die Auslösung dieses Vorganges erforderlich ist. Außerdem müßten dann auch andere, chemisch ähnlich reaktionsfähige Substanzen wie Adrenalin eine Wirkungsverstärkung der Histaminhemmung erkennen lassen. — Es wurden daher von uns einige orientierende Versuche unternommen, ob durch Ascorbinsäure, der gewisse antiallergische Eigenschaften zugesprochen werden, ein ähnliches Ergebnis gemeinsam mit Hibernon zu erreichen sein würde. Die Versuche verliefen jedoch völlig negativ, so daß die Möglichkeit einer gegenseitigen chemischen Beeinflussung von Adrenalin und Antihistaminkörper in vivo sehr unwahrscheinlich erscheint.

Das gegenseitige Verhältnis zwischen Adrenalin und Histamin im Organismus hat bislang noch keine klare Lösung gefunden. Dale vermutete aber bereits in allen seinen grundlegenden Arbeiten über Histamin, daß zwischen den beiden Wirkstoffen ein Antagonismus bestehen muß, der insbesondere wohl schon darin zum Ausdruck kommt, daß eine parenterale Adrenalin-Verabfolgung eine Erhöhung des Histaminblutspiegels zur Folge hat und umgekehrt eine Histamininjektion eine Steigerung der Adrenalin-Sympathingabe aus den Nebennieren hervorruft. Es ist sehr naheliegend, diese prompte Reaktion des Organismus auf Zuführung eines der beiden Amine als gegenregulatorischen Effekt zur Aufrechterhaltung eines normalen Kreislauftonus aufzufassen. Diese Ansicht wird in neueren Arbeiten insbesondere von Staub vertreten[22]. Beide Pharmaka regulieren nach seinen Untersuchungen den Blutdruck, der Angriffspunkt ist das Kapillarsystem, wo sie ein rhythmisches Pendeln des Tonus um den jeweils erforderlichen Gleichgewichtszustand bewirken.

Ein gegensätzliches Verhalten zwischen Adrenalin und Histamin geht auch aus folgenden Versuchen hervor: Nebennierenlose Tiere sind gegenüber Histamin viel empfindlicher als normale Tiere (Dale[23], Crivellary[24], Mamorston und Gottesman[25]). Gottesman[26] und Wyman[27] gelang es, durch Adrenalin-Vorbehandlung nebennierenlose Ratten widerstandsfähiger gegenüber Histamin zu machen. Die Erhöhung der Toxizität nebennierenloser Tiere ist somit nicht auf das Fehlen der Rinde, sondern des Markes zurückzuführen. Halpern[28] stellte außerdem kürzlich fest, daß bei Ratten durch Antihistaminica die Histaminverträglichkeit nicht mehr gesteigert werden kann, dagegen ließ sich bei der nebennierenlosen Ratte die Empfindlichkeit für Histamin durch Antihistaminica wieder auf den Stand des Normaltieres bringen. Die Antihistaminica vermögen somit bei den nebennierenlosen Tieren bis zu einem gewissen Grade die Rolle des Adrenalins zu übernehmen.

Alle diese Versuche zeigen nun, daß auf der einen Seite ein Antagonismus zwischen Adrenalin und Histamin, auf der anderen Seite ein Synergismus zwischen A. H.-Körper und Adrenalin besteht, da die letzteren pharmakologisch gleichsinnig angreifend die Histaminwirkung antagonistisch beeinflussen. Die hier beschriebene Wirkungsverstärkung des A. H.-Effektes durch Adrenalin erbringt eine weitere Stütze für diesen Synergismus. Es kommt hinzu, daß die Hemmung der Histaminwirkung durch ein Antihistaminicum für die meisten Substanzen dieser Körperklasse am isolierten glattmuskeligen Organ nur insofern spezifisch ist, als sie für Histamin bereits in niedrigen Konzentrationen erfolgt, in höheren Konzentrationen werden dagegen auch Azetylcholin, Bariumchlorid und andere kontraktionserregende Substanzen beeinflußt. Die Spezifität ist somit nur eine Frage der Konzentration. Da die meisten Antihistaminica experimentell auch den Effekt des parasympathikomimetischen Überträgerstoffes Azetylcholin zu hemmen vermögen, liegt auch hier ein synergistisches Verhalten zu den Sympathicomimetica vor. Die aufgefundene Verstärkung der A. H.-Wirkung könnte somit durch das Zusammentreffen zweier gleichsinnig wirkender Stoffe bedingt sein, von denen der eine, das Adrenalin, am Gefäßsystem selbst angreift und durch Veränderungen der Gefäßweite dem Histamin entgegenwirkt, wogegen die A. H.-Körper einmal die hypothetischen Geweberezeptoren, an denen das Histamin zur Ausübung seiner Wirksamkeit verankert werden muß, blockieren und außerdem eine permeabilitätsdichtende Wirkung am Kapillarsystem besitzen.

Mit der Antihistaminsubstanz Hibernon gelingt es, den tödlichen Ausgang einer Endotoxinvergiftung bei Mäusen wesentlich zu beeinflussen. Ähnliche Befunde sind bisher nur von Levaditi[20] mit Sulfonamiden erhalten worden. Es erscheint auf den ersten Blick vielleicht eigenartig, daß zwei, wirkungsmäßig so wenig miteinander verwandte Körper in der Lage sind, derart gleichsinnig auf die Endotoxinvergiftung einzuwirken. Nach neuen Untersuchungen besitzen aber die Sulfonamide und Antihistaminica einen gemeinsamen Angriffspunkt. Stüttgen[29] stellte nämlich fest, daß verschiedene Antihistaminica über bakteriostatische Eigenschaften verfügen; von den untersuchten Substanzen

stand dabei Hibernon hinsichtlich dieses Effektes an der Spitze, die zur Hemmung des Wachstums der Bakterien erforderlichen Konzentrationen bewegten sich in der Größenordnung der Sulfonamide. Auch von anderer Seite (Riits und Zanussi[30]) wurden kürzlich die gleichen Beobachtungen mitgeteilt. Histaminzusatz zum Nährboden hebt diese bakteriostatischen Wirkungen der Antihistaminica nicht auf, so daß die antihistamin- und antibakterielle Wirksamkeit voneinander grundverschieden sein müssen, zumal Histamin kein bakterieller Wachstumsfaktor ist. Andererseits verfügen aber die Sulfonamide, wie Riits und Zanussi betonen, auch über gewisse antiallergische Fähigkeiten, indem sie bisweilen imstande sind, der Serumkrankheit vorzubeugen und den anaphylaktischen Schock von Kaninchen zu kupieren. Die Anti-Endotoxinwirkung von Hibernon könnte somit vielleicht auf seinen bakteriostatischen Effekt zurückzuführen sein, wie dieses von Tietz[21] u. Mitarb. für die Sulfonamide erörtert wird, derart, daß die unter der Endotoxinvergiftung sich entwickelnde Entartung der Darmflora, analog den Sulfonamiden, auch durch Hibernon verhindert wird. Über das Verhalten der Darmflora nach Endotoxin und Hibernon können wir nichts aussagen, da entsprechende Versuche noch nicht vorliegen. Es ist aber anzunehmen, daß es in Anbetracht der Stärke seines bakteriostatischen Effektes sich ähnlich verhalten würde.

Auf der anderen Seite könnte für den Ablauf und die Beeinflussung der Endotoxinvergiftung auch die eigentliche Antihistaminwirkung des Hibernon von Bedeutung sein, da nach Delauney[18] u. Mitarb. unter der Einwirkung des Endotoxin im Organismus biologisch wirksame, gefäßaktive Substanzen vom Typ des Histamin frei werden, die eine Hypertonie der terminalen Strombahnen auszulösen vermögen. Insbesondere ließen sich die von Delauney beobachteten alternierenden Veränderungen der Gefäßweite der Arteriolen und Venolen im Sinne von Staub[22] auf eine Mitbeteiligung von Histamin oder Histaminsubstanzen zurückführen, wobei aber an die Möglichkeit zu denken ist, daß unter Endotoxin eine gewisse Sensibilisierung für das normalerweise sezernierte Histamin vorliegen könnte. Die mit dem Antihistaminicum erhaltenen Ergebnisse, den tödlichen Ausgang der Endotoxinvergiftung zu reduzieren, würden durch Eingriff auch an dieser Stelle verständlich. Inwiefern diese Annahme zu Recht besteht, läßt sich aber erst nach experimenteller Klärung der Frage, welche Rolle das Histamin bei dem Ablauf der Endotoxinvergiftung spielt, entscheiden.

Die Antihistaminica besitzen zudem außer ihrer markantesten Eigenschaft, der sie ihren Namen verdanken, weitere biologische Angriffspunkte. Es sei nur an die Permeabilitätsdichtung, die wohl in engem Zusammenhang mit der Antihistaminwirkung steht, und an die Beeinflussung fermentativer Prozesse erinnert, so daß noch andere, zunächst unbekannte Faktoren für die Beeinflussung der Endotoxinvergiftung in vivo eine bedeutsame Rolle spielen können.

Zusammenfassung.

1. Die Bromsubstituierung des N′-dimethylaminoäthyl-N-benzyl-α-aminopyridin (Hibernon) führte an der Maus zu einer erheblichen Verringerung der akuten Toxizität. Bei Verabreichung hoher Dosen an Mäuse über einen Zeitraum von 5 Wochen ließen sich im Blutbild keine Veränderungen, die für eine Schädigung der Bildungsstätten der Blutkörperchen sprechen, nachweisen.

2. 30 min vor intrakardialer Histamininjektion appliziertes Hibernon schützt Meerschweinchen vor dem tödlichen Ausgang der Vergiftung. Die minimal-effektive Dosis betrug 0,01 mg/kg.

3. Hibernon schwächt an Katzen und Hunden die depressorische Histaminwirkung am Blutdruck ab. Adrenalin verstärkt den histaminhemmenden Effekt.

4. Der tödliche Ausgang einer Endotoxinvergiftung läßt sich durch gleichzeitige Behandlung der Versuchstiere mit Hibernon verhindern.

Literatur.

[1] Mayer: J. Allergy **17**, 153 (1946). — [2] Mayer, Hays, Brusseau, Mathison, Rennick u. Yonkman: J. Labor. a. clin. Med. **31**, 749 (1946). — [3] Yonkman, Chess, Mathison u. Hansen: J. of Pharmacol. **87**, 256 (1946). — [4] Mayer u. Brusseau: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **63**, 187 (1946). — [5] Yonkman, Oppenheimer, Rennick u. Pellet: J. of Pharmacol. **89**, 31 (1947). — [6] Marsh u. Daves: J. of Pharmacol. **89**, 234 (1947). — [7] Sherrod, Loew u. Schloemer: J. of Pharmacol. **89**, 247 (1947). — [8] Clapp: J. Amer. chem. Soc. **69**, 1549 (1947). — [9] Litchfield, Adams, Goddard, Jeger u. Alonso: Bull. John Hopkins Hospital **81**, 55 (1947).— [10] Domenjoz u. Jaques: Schweiz. med. Wschr. **79**, 476 (1949). — [11] Schild: Brit. J. Pharmacol. **2**, 187, 257 (1947). — [12] Alberty: Klin. Wschr. **28**, 786 (1950). — [13] Vaughan jr., Anderson, Clapp, Englisch, Howard, Marson, Sutherland u. Denton: J. of org. Chem. **14**, 228 (1949). — [14] Loew: Physiologic. Rev. **27**, 542 (1947). — [15] Bunse: Ärztl. Wschr. **5**, 736 (1950). — [16] Lindner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 328 (1950). — [17] Landau, Mariott u. Gay: Bull. John Hopkins Hospital **83**, 343 (1948). — [18] Delauney, Lebrun u. Coterau: Ann. Inst. Pasteur 565 (1947). — Bauguet, Delauney, Schoult u. Lebrun: C. r. Soc. Biol. Paris **141**, 269 (1947). — [19] Roberts: Comp. J. Path. **59**, 284 (1949). — [20] Levaditi u. Vaisman: C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 1092 (1937). — C. r. Acad. Sci. Paris **205**, 1108 (1937). — Ann. Inst. Pasteur **61**, 635 (1938). — Presse méd. **78**, 1371 (1937). — [21] Jaffke: Dissertation Göttingen 1949, Hygien. Institut. — [22] Staub: Schweiz. med. Wschr. **76**, 818 (1946). — Helvet. physiol. pharmacol. Act. 4, Fasc. 4 (1946). — Staub u. Bauer: Schweiz. med. Wschr. **78**, 1249 (1948). — [23] Dale: Brit. J. exper. Med. **1**, 103 (1920). — [24] Crivellary: Amer. J. Physiol. **81**, 414 (1927). — [25] Mamorston-Gottesman u. Gottesman: J. of exper. Med. **47**, 503 (1928). — [26] Perla u. Mamorston-Gottesman: Amer. J. Physiol. **89**, 152 (1929). — [27] Wyman: Amer. J. Physiol. **87**, 29 (1928). — [28] Halpern, B., u. D. Wood: C. R. hebd. Seances Acad. Sci. **230**, 138 (1950). — [29] Stüttgen: Münch. med. Wschr. **92**, Nr. 19/20 (1950). — [30] Riits u. Zanussi: Rev. Dell. Institut Sier.-Terap. **24**, 10 (1950).

Dr. Karl Credner., Wiss. Labor der DIWAG Chemische Fabriken GmbH., (20b) Hann. Münden.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 485—500 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim/Rhein.

Pharmakologie des Buscopan.

Von

HELMUT WICK.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Februar 1951.)

Die sogenannten neurotropen Spasmolytika mit ihren Hauptvertretern Atropin und Skopolamin haben in der ärztlichen Praxis wegen ihrer Nebenwirkungen (Hemmung von Speichel- und Schweißsekretion, Tachykardie, Pupillenerweiterung mit Lichtscheu und Akkomodationslähmung) nicht alle Wünsche befriedigen können. Im Laufe der Jahre ist eine Reihe von spasmolytisch wirksamen Körpern beschrieben worden, bei denen das Verhältnis von Spasmolyse (= Hauptwirkung) zur Speichelsekretions-, Herz- und Pupillenwirkung (= Nebenwirkung) günstiger als beim Atropin bzw. Skopolamin liegen soll. Diese Verbesserung ist aber meist mit einem Verlust an spezifischer „neurotroper" und mit einem verstärkten Auftreten von unspezifischer „muskulotroper" Wirkung erkauft worden, so daß einerseits die gezielte Wirkung der Atropin-Skopolamin-Gruppe auf das vagale System verlorenging und nun die Effekte einer generalisierten Papaverin-ähnlichen Spasmolyse in Erscheinung traten und andererseits Dosen erforderlich wurden, die einige Zehnerpotenzen höher lagen als die des Atropins oder Skopolamins. Auf Anregung von F. HAFFNER-Tübingen wurden nun in der Absicht, auf anderen Wegen zu einem befriedigenden Spasmolytikum zu kommen, in den Laboratorien der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein, eine Reihe quaternärer Ammoniumverbindungen des Skopolamins hergestellt und pharmakologisch geprüft; sie sind in der untenstehenden Tabelle 1 aufgeführt.

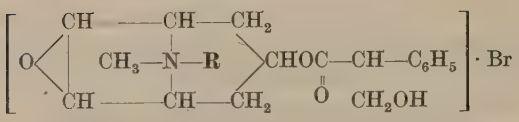
Aus später zu besprechenden Gründen wurde noch als Ad 10 eine quaternäre Ammoniumverbindung des Atropins, das Atropin-n-Butyl-bromid, das sich also von Ad 1 = Buscopan nur durch das Fehlen der Skopolaminsauerstoffbrücke unterscheidet, hergestellt und in die Untersuchungen mit einbezogen.

I. Allgemeinere Prüfung der Spasmolytika Ad 1 bis Ad 10.

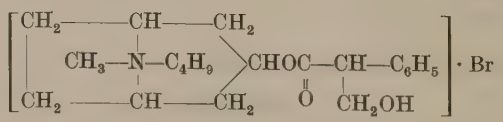
1. Spasmolyse.

Nach der Methode von MAGNUS[28] wurde am isolierten Mäuse- und Rattendarm durch Pilokarpin 1:100000 ein Spasmus erzeugt und die Dosis der Substanzen Ad 1 bis Ad 10 gesucht, die in gleicher Weise

Tabelle 1. *Skopolammoniumkörper.*



Bezeichnung	R =	F =	$[\alpha]_D^{20}$ =	MG
Ad 1 = Buscopan l—N—Butyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$	143—144°	— 20,8°	440,37
Ad 2 = l—Benzyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-C_6H_5$	180—181°	— 20°	474
Ad 3 — l-Phenacyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-CO-C_6H_5$	154°	— 16,4°	502
Ad 4 = l-Carbäthoxymethyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-COO-C_2H_5$	176°	— 20,43	470
Ad 5 = l-Carbobutoxymethyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-COO-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$	126°	— 18,23	498
Ad 6 = l-Allyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-CH=CH_2$	168—170°	— 22,6°	424,27
Ad 7 — l-β-Oxyäthyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-CH_2OH$	192°	— 21,32°	428,27
Ad 8 = l-Isoamyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-CH_2-CH(CH_3)_2$	177°	— 20,36	454,40
Ad 9 = l-Carbaminyl-methyl-scopolammoniumbromid	$-CH_2-C(=O)-NH_2$	177°	— 20,72	441,34
Ad 10 = l-Butyl-atropiniumbromid		75°	optisch nicht aktiv	426,40



wie Atropin den Krampf wieder löste. Es ergaben sich folgende Mittelwerte aus der in Klammern stehenden Anzahl von Versuchen:

Atropin	1 : 10000000
Skopolamin	1 : 10000000
Ad 1 = Buscopan	1 : 5—1 : 10000000 (42 Versuche)
Ad 2	1 : 2000000 (10 Versuche)
Ad 3	1 : 200000 (11 Versuche)
Ad 4	1 : 2000000 (13 Versuche)
Ad 5	1 : 2000000 (8 Versuche)
Ad 6	1 : 2000000 (15 Versuche)
Ad 7	1 : 5—1 : 10000000 (6 Versuche)
Ad 8	1 : 100000 (2 Versuche)
Ad 9	1 : 5—1 : 10000000 (4 Versuche)
Ad 10	1 : 100000 (10 Versuche)

2. Herzwirkung.

Am Straubschen Froschherz (Temporarien) wurde die antagonistische Wirkung der Substanzen Ad 1 bis Ad 10 gegenüber der Herzhemmung durch Azetylcholin bestimmt. Setzt man die Wirkung des Atropins = 1, so ergeben sich folgende Verhältniszahlen (Mittelwerte aus der in Klammern stehenden Anzahl von Versuchen):

Ad 1 = Buscopan	$\frac{1}{2}$—1	(44 Versuche)
Ad 2	$\frac{1}{5}$	(15 Versuche)
Ad 3	$\frac{1}{5}$—$\frac{1}{10}$	(10 Versuche)
Ad 4	1	(12 Versuche)
Ad 5	1	(18 Versuche)
Ad 6	$\frac{1}{2}$—1	(8 Versuche)
Ad 7	1	(19 Versuche)
Ad 8	1	(21 Versuche)
Ad 9	1	(18 Versuche)
Ad 10	1	(11 Versuche)

Diese Werte findet man, wenn ein durch Azetylcholin stillstehendes Froschherz durch die obigen Pharmaka wieder zum Schlagen gebracht werden soll. Geht man umgekehrt vor, indem man die Wirkung dieser Pharmaka durch Azetylcholin zu überwinden versucht, so spielt die unterschiedliche Haftfähigkeit bzw. Zerstörbarkeit von Atropin, Skopolamin usw. eine ähnliche Rolle wie die schnelle Zerstörbarkeit des Azetylcholins. Dies läßt sich zeigen, indem man die isolierten Froschherzen 10 min lang mit dem betreffenden Alkaloid 1 : 100000 in Kontakt läßt, dann jeweils 5mal mit Ringer-Lösung auswäscht und nun die Zeit bestimmt, nach der sich erstmals wieder durch Azetylcholin 1 : 10000 ein Herzstillstand erzwingen läßt. Dies ist bei

Atropin	nach etwa	180—240 min	
Skopolamin	„	„	15 min
Ad 1 = Buscopan	„	„	20—25 min der Fall.

3. Mydriatische Wirkung.

Sie wurde nach der Methode von Pulewka[32] an der Pupille der weißen Maus bestimmt und führte zu folgenden Vergleichszahlen (Mittelwerte aus jeweils 4 Tieren pro Substanz):

Atropin	1,0
Skopolamin	2,5
Ad 1 = Buscopan	0,002
Ad 2	0,25
Ad 3	1,5
Ad 4	0,75
Ad 5	2,0
Ad 6	0,5
Ad 7	0,9
Ad 8	0,001
Ad 9	0,8
Ad 10	0,033

4. Zentrale Wirkung.

Als ihre Äußerung wurde die Spontanaktivität (Lauf- und Putzbewegungen) von weißen Mäusen registriert. Die Versuche wurden stets zur gleichen Tageszeit (vormittags) ausgeführt, um Einflüsse der Tagesrhythmik[2] auszuschließen. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 vereinfacht und ausgewertet dargestellt.

Tabelle 2. *Spontanaktivität (Lauf- und Putzbewegungen) der weißen Maus.*

Dosis	0,5	1,25	2,5	5,0	10	20	30 mg/kg
Atropin	± 0	— 1	— 1	— 1	— 2	— 2	— 2
Skopolamin	± 0	+ 1	+ 2	+ 2	+ 3	+ 3	+ 3
Ad 1 = Buscopan	± 0	± 0	± 0	— 1	— 1	— 2	— 3
Ad 2	± 0	± 0	± 0	— 1	— 1	— 1	— 1
Ad 3	± 0	± 0	± 0	± 0	+ 1x	+ 2x	+ 1*
Ad 4	± 0	± 0	± 0	— 1	— 1	± 0	— 1
Ad 5	± 0	± 0	± 0	— 1	— 1	+ 2	+ 3*
Ad 6	± 0	± 0	± 0	— 1	— 1	+ 1	+ 2
Ad 7	± 0	± 0	± 0	— 1	± 0	+ 1	+ 1
Ad 8	± 0	± 0	± 0	± 0	— 1	— 2	— 2
Ad 9	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	— 1	± 0
Ad 10	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0

± 0 = normal
* = Krämpfe.
x = durch Sedationsperioden unterbrochene Erregung.

+ 1 = schwach erregt.
+ 2 = mittelstark erregt.
+ 3 = stark erregt.
— 1 = schwach beruhigt.
— 2 = mittelstark beruhigt.
— 3 = stark beruhigt.

5. Toxizität.

An weißen Mäusen wurden für die 10 Ad-Substanzen sowie für Atropin und Skopolamin die tödliche Dosis in zunächst nur orientierender Weise für die subkutane Injektion bestimmt.

Atropin	75—125 mg/kg Maus
Skopolamin	1400—1800 mg/kg
Ad 1 = Buscopan	300 mg/kg
Ad 2	300—450 mg/kg
Ad 3	450—600 mg/kg
Ad 4	300—450 mg/kg
Ad 5	150—300 mg/kg
Ad 6	150—300 mg/kg
Ad 7	300—450 mg/kg
Ad 8	300—450 mg/kg
Ad 9	450—600 mg/kg
Ad 10	75—100 mg/kg

Auswertung.

In Tab. 3 sind noch einmal die wichtigsten Daten nebeneinandergestellt. In Spalte 2 ist als „Hauptwirkung" die Spasmolyse beim Pilokarpinkrampf des isolierten Darmes, in Spalte 3 als ein genau bestimmbarer Vertreter der „Nebenwirkung" die Pupillenerweiterung der weißen Maus (Methode Pulewka) bei subkutaner Injektion aufgeführt; in beiden Spalten wird willkürlich die Atropinwirkung als 1 gesetzt. In Spalte 4 ist der Quotient von Haupt- und Nebenwirkung errechnet. Spalte 5 gibt das Verhältnis zwischen Spasmolyse und tödlicher Dosis wieder, wobei wieder die spasmolytische Wirkung und die Toxizität des Atropins (letztere auf den Mittelwert von 100 mg/kg bezogen) willkürlich mit je 1 angenommen werden.

Tabelle 3.

1	2	3	4	5
Substanz	„Hauptwirkung" Spasmolyse beim Pilokarpinkrampf isol. Darm	„Nebenwirkung" Pupillenerweiterung weiße Maus	Quotient „Neben-" zu „Haupt"-wirkung	Wirkungsbreite = Quotient tödl. Dosis: Spasmolyse
Atropin	1	1	1	1
Skopolamin	1	2,5	2,5	12—20
A 1 Buscopan	0,5—1	0,002	0,003	1,5—3
Ad 2	0,2	0,25	1	0,75
Ad 3	0,02	1,5	75	0,1
Ad 4	0,2	0,75	3,7	0,75
Ad 5	0,2	2	10	0,5
Ad 6	0,2	0,5	2,5	0,5
Ad 7	0,5—1	0,9	1	1,8—3,5
Ad 8	0,01	0,001	0,1	0,05
Ad 9	0,5—1	0,8	1	2,5—5,0
Ad 10	0,01	0,033	3,3	0,01

Nur zwei der quaternären Skopolaminverbindungen, Ad 1 = Buscopan und Ad 8 zeigen ein Verhältnis von Haupt- zu Nebenwirkung, das günstiger als beim Atropin ist. Von diesen beiden Körpern besitzt relativ und zum Teil auch absolut Ad 1 = Buscopan eine günstigere Wirkungsbreite als Atropin, während Ad 8 nur $^1/_{20}$ des Atropin-Spielraums bietet; bei der letzteren Substanz käme noch erschwerend hinzu,

daß die absolute Dosis rund 100 mal höher als die des Atropins angesetzt werden müßte. Für eine nähere Untersuchung kam deshalb wegen seiner günstigen Relationen nur Ad 1 = Buscopan in Frage.

II. Spezielle Pharmakologie des Buscopan.

1. Herzfrequenzwirkung.

Die Wirkung des Buscopan auf die Herzfrequenz wurde an nicht narkotisierten Hunden untersucht. Die Untersuchungen wurden an ruhigen, an Experimente gewöhnten Tieren in einem Raum durchgeführt, in dem sie nicht durch Geräusche usw. gestört werden konnten. Die zu untersuchenden Pharmaka wurden subkutan injiziert; die durch die Injektion hervorgerufene Herzfrequenzerhöhung war nur

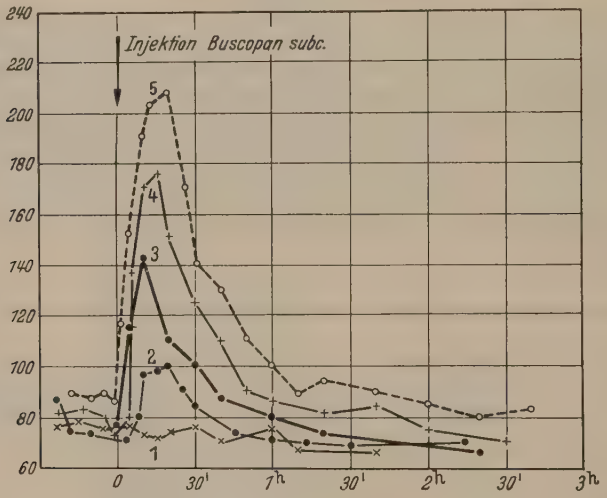


Abb. 1. Herzfrequenz nicht narkotisierter Hunde.
1. — × — × — Hund Wanda, 10 kg, 0,1 mg/kg Buscopan.
2. — • — • — Hund Wanda, 10 kg. 0,5 mg/kg Buscopan.
3. ——•—— Hund Wanda, 10 kg. 1,0 mg/kg Buscopan.
4. ——×—— Hund Wanda, 10 kg. 2,0 mg/kg Buscopan.
5. - - -o- - -o- - - Hund Luchs, 13,5 kg. 3,0 mg/kg Buscopan.

gering und ganz transitorisch. Auf diese Weise war es möglich, an gleichen Versuchshunden die verschiedenen Substanzen zu testen; zwischen den Versuchen lag stets eine Pause von wenigstens 3 Tagen. Die Pulsfrequenz wurde mit der Stoppuhr bestimmt, die Ruhepulse lagen meist um 80 min (10—13,5 kg schwere Hunde).

Eine deutliche Atropin- und Skopolamin-Tachykardie erfolgte bei Dosierung von 0,05 und 0,1 mg/kg Atropin bzw. Skopolamin. Die gleichen Dosen von Buscopan (Abb. 1) lassen die Herzfrequenz unbeeinflußt; erst die rund 30 mal größere Dosis von Buscopan führt zu einer Lähmung der vagalen Herzbremse, die der bei Atropin und Skopolamin in der erstgenannten Dosierung entspricht (Durchschnittswerte aus 28 Versuchen).

Bei den Atropinversuchen waren die Hunde ruhig, etwas schläfrig, die Pupillen weit, Nase und Zunge deutlich trocken; bei Skopolamin waren sie unruhig und schreckhaft, Nase und Zunge gleichfalls deutlich trocken. Nach den Buscopan-Injektionen waren keine psychischen Abweichungen von der Norm zu beobachten. Über die Dauer der Pharmakawirkung kann folgendes gesagt werden: Die Atropin- und Skopolamin-Tachykardie dauert nach 0,1 mg/kg beim nicht narkotisierten Hund rund 2 Std, nach 0,05 mg/kg Atropin bzw. Skopolamin etwa 1½ Std, während die Tachykardie nach 3 mg/kg Buscopan etwa nach 1 Std zur Norm abgeklungen ist.

Bei narkotisierten Hunden (Morphin-Chloralose) lassen sich die Effekte der beiderseitigen elektrischen Vagusreizung auf die Herzfrequenz durch 1—3 mg/kg Buscopan nicht aufheben, während Atropin in gleicher Dosis die Vagusreizung unwirksam macht.

2. Speichelsekretionshemmung.

Bei den Versuchen zur Bestimmung der Speichelsekretionshemmung des Buscopan und zum Vergleich mit Atropin wurden Katzen in Urethan-Narkose (1 g/kg Urethan) im „Kreuzversuch" benutzt. Als Beispiel folgende Versuche:

a) Katze von 2,750 kg, 1 g/kg Urethan. Subkutane Injektion von 0,1 mg/kg Atropin. 15 min später 5 mg/kg Pilokarpin subkutan. Gesamtspeichelmenge in 90 min 13,9 cm³.

Gleiches Tier 6 Tage später, 1 g/kg Urethan. Subkutane Injektion von 2,0 mg/kg Buscopan, 15 min später 5 mg/kg Pilokarpin subkutan. Gesamtspeichelmenge in 90 min 28,6 cm³.

Berechnung: Gleichwirksame Dosis Buscopan zu Atropin wie

$$\frac{28{,}6}{13{,}9} \times 20 = \mathbf{41:1}$$

b) Katze von 2,150 kg, 1 g/kg Urethan. Subkutane Injektion von 2,0 mg/kg Buscopan. 15 min später 5 mg/kg Pilokarpin subkutan. Gesamtspeichelmenge in 90 min 23,7 cm³.

Gleiches Tier 6 Tage später, 1 g/kg Urethan. Subkutane Injektion von 0,1 mg/kg Atropin. 15 min später 5 mg/kg Pilokarpin subkutan. Gesamtspeichelmenge in 90 min 8,3 cm³.

Berechnung: Gleichwirksame Dosis Buscopan zu Atropin wie

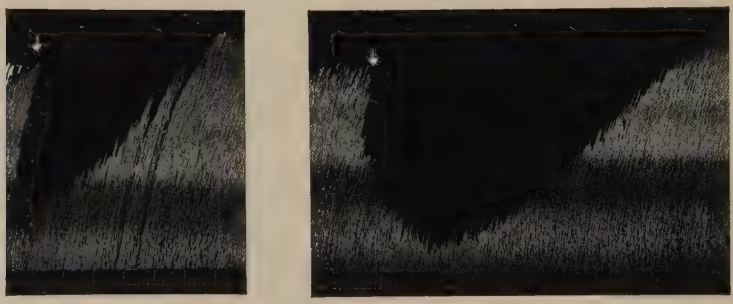
$$\frac{23{,}7}{8{,}3} \times 20 = \mathbf{57:1}$$

Buscopan hemmt also die Pilokarpin-Speichelsekretion bei der Katze rund 50mal schwächer als Atropin.

3. Broncholytische Wirkung.

Nach der Methode von Konzett und Rössler[23] wurde an Hunden in Morphin-Chloralose-Narkose durch Pilokarpin-Dauerinfusion ein Bronchospasmus erzeugt und an diesem Modell die broncholytische Wirkung des Buscopan untersucht. Wie Abb. 2 zeigt, ist Buscopan gleich stark wie Adrenalin bronchialerweiternd; die Wirkung dauert

jedoch länger an als beim Adrenalin. Insbesondere konnte noch festgestellt werden, daß die elektrische Vagusreizung (gleichfalls Hunde in Morphin-Chloralose und Methode Konzett-Rössler) während der Wirkungsdauer von Buscopan (0,1 mg/kg), Atropin (0,1 mg/kg), Aludrin (1 μg/kg), und Tetraäthylammoniumbromid (10 mg/kg) keinen Bronchospasmus hervorrufen kann. Gegenüber den kurzdauernden Bronchospasmen, die durch Azetylcholin (2—3 μg/kg i.v.) erzeugt werden können, ist Buscopan nicht gleich stark antagonistisch wirksam: nach 0,5 mg/kg Buscopan gelingt es schon durch eine 4—5mal größere Azetylcholin-Dosis (8—15 μg/kg), den Bronchospasmus in gleicher Stärke wie vor Buscopan hervorzurufen. Zum Vergleich sei mitgeteilt, daß Atropin bei diesem Test wesentlich stärker wirksam ist und die



a *b*

Abb. 2. Hund, 14 kg, Morphin-Chloralose. Bivagotomie. Pilokarpin-Dauerinfusion von 2,5 μg/kg/min. Bronchialvolumen nach Konzett-Rössler. Aufblasdruck 8 cm/H_2O, Beatmungsfrequenz 20/min. Zeitschreibung: 10 sec. *a* 10 μg/kg Adrenalin, *b* 10 μg/kg Buscopan. Zwischen *a* und *b* 5 min Pause.

muskarinähnlichen Effekte des Azetylcholins[8] vollkommen unterdrückt[14]. Gegenüber dem Histamin-Bronchospasmus (Histamin 2 bis 4 μg/kg i.v. beim Hund, Methode Konzett-Rössler) ist Buscopan unwirksam; auch beim Histamin-Asthma des Meerschweinchens (Methode Kallós und Pagel[20], Vernebelung von 0,6% Histaminlösung) ist Buscopan bis 20 mg/kg s.c. wirkungslos.

4. Spasmolyse des Darms.

Beim Pilokarpinspasmus des nach Magnus isolierten Darmes ist Buscopan in fast der gleichen oder nur wenig geringeren Stärke wirksam wie Atropin (Abb. 3). Auch wenn man mit einem Gummiballon im Jejunum des Hundes die normalen Darmbewegungen registriert und nun die Wirkungen von Buscopan und Atropin vergleichend untersucht, zeigen sich keine größeren Divergenzen mit der Ausnahme, daß Buscopan etwas kürzer als Atropin wirkt (Abb. 4). Dagegen unterdrückt Buscopan den Effekt der elektrischen Vagusreizung auf den Darm, während Atropin hierbei ohne Wirkung ist (Abb. 5).

Sehr auffallend ist nun das Verhalten des Buscopan gegenüber der Darmwirkung des Azetylcholins. Erhöht man nämlich durch kleine Azetylcholindosen den Tonus des nach MAGNUS isolierten Darms, wobei die Pendelbewegungen praktisch unbeeinflußt bleiben, so zeigt sich Buscopan bei der quantitativen Auswertung gegenüber Atropin rund 100—500mal schwächer. Bei vielen Versuchen gewinnt man den Ein-

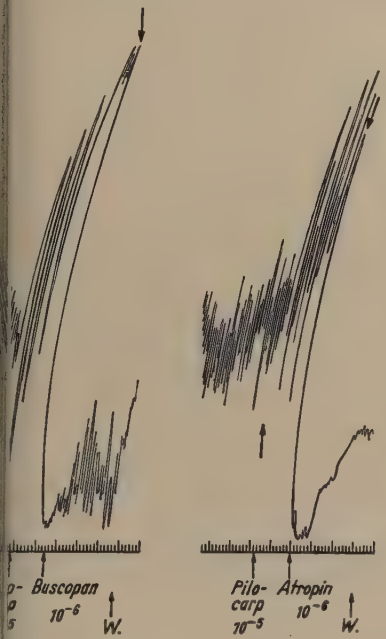


Abb. 3a.

Abb. 3b.

Abb. 3. Isolierter Meerschweinchendünndarm in Tyrode. a) Lösung des Pilocarpinspasmus durch Buscopan 10^{-6}. b) Gleiches Darmstück, 30 min später. Spasmolyse durch Atropin 10^{-6}.

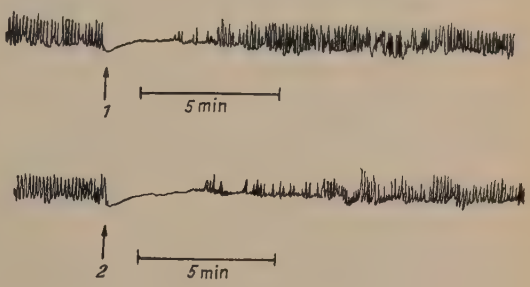


Abb. 4.

Abb. 4. Hund, 10 kg, Morphin-Chloralose. Gummiballon im Jejunum. Bei 1: Injektion von 0,1 mg/kg Buscopan. Bei 2: Injektion von 0,1 mg/kg Atropin. Zwischen beiden Kurvenabschnitten 30 min Pause.

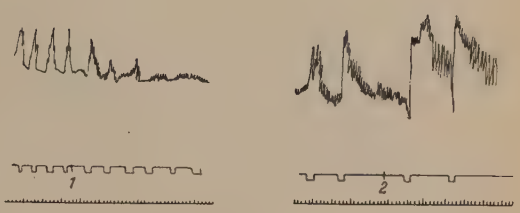


Abb. 5.

Abb. 5. Hund, 6,3 kg Morphin-Chloralose. Ballon im Jejunum. Zeitschreibung 10 sec. Bei den Signalen: Reizung beider Halsvagi mit unpolarisierbaren (Ton-Zinksulfat-Zink)-Elektroden. Reizfrequenz 30 Hz, Impulsdauer 1 msec, Stromstöße rechteckig. Bei 1: 0,1 mg/kg Buscopan. Bei 2: 0,1 mg/kg Atropin. Zwischen beiden Kurven 20 min Pause.

druck, daß es im Vergleich zum Atropin um so schwächer gegen die Azetylcholin-Tonuserhöhungen wirkt, je geringer die Tonuserhöhung bzw. die Azetylcholin-Dosis war.

Beim Bariumchlorid-Krampf des isolierten Darmes (1:2000 bis 1:10000 $BaCl_2$) ist Buscopan gleich unwirksam wie Atropin und zeigt nur rund $^1/_{50}$ der Papaverinwirkung.

5. Kurarewirkung.

Als quaternäre Ammoniumbase besitzt Buscopan kurareähnliche Eigenschaften. Dies kann an dem nach Trendelenburg durchströmten Froschpräparat[33] gezeigt werden: Registriert man die Zuckungshöhe des Froschgastrocnemius bei elektrischer Reizung des entsprechenden N. ischiadicus in 30 sec Abstand mit supramaximalen Einzelreizen, so nimmt die Kontraktionshöhe nach 1,0 mg Buscopan, der durchströmenden Ringer-Lösung zugesetzt, ähnlich stark wie nach 0,1 E Intocostrin ab.

An 10 Kaninchen wurde die Kopffalldosis des Buscopan bei stets gleicher Injektionsgeschwindigkeit (90 sec Injektionsdauer) bestimmt und zu 10—12 mg/kg gefunden.

6. Blutdruck und Atmung

werden nach Dosen von 1—5 mg/kg i. v. bei Katzen und Hunden in Chloralose-Narkose nicht nennenswert beeinflußt: Unmittelbar nach der Injektion tritt eine geringe und kurzdauernde Blutdrucksenkung auf; etwa für die gleiche Zeit ist die Herztätigkeit beschleunigt, kehrt aber beim narkotisierten Tier schon nach 1 min zur Norm zurück.

Die *Atmung* ist bei den obigen Dosen kurzdauernd etwas beschleunigt und vertieft.

Der *Blutzuckerspiegel* zeigt nach s.c. -Injektion von 1,5 und 30 mg/kg Buscopan bei Kaninchen und Hunden keine besonderen Veränderungen (6 Versuche).

An der Kaninchenkornea zeigt Buscopan keine lokalanästhetische Wirkung.

7. Toxizität.

Sie wurde an weißen Mäusen bestimmt und ergab folgende Werte (Berechnung nach Kärber[21]):

Tabelle 4.

Buscopan	LD 50 in mg/kg
Intravenös	20 (4 Gruppen zu je 5 Mäusen)
Subkutan	304 (6 Gruppen zu je 5 Mäusen)
Peroral	3000 (5 Gruppen zu je 5 Mäusen)

III. Analyse der Buscopanwirkung.

Wenn man aus den oben beschriebenen Divergenzen in der Buscopanwirkung gegenüber Azetylcholin- und Pilokarpineffekten schließen konnte, daß dem Buscopan ein besonderer Angriffspunkt an den vegetativen Erfolgsorganen zukommt, so kann dies bei besonderen Versuchsanordnungen noch experimentell gezeigt werden.

1. Ein geeignetes in-vitro-Modell hierfür ist der isolierte Trachealring des Hundes[36]: Er zeigt zunächst keine Eigenbewegungen, besteht nur aus glatter Muskulatur *einer* Richtung und wird bei der gewählten Versuchsanordnung nicht durch Innendruckschwankungen des Organs wie Darm[34] und Uterus[25] in seinem Verhalten beeinflußt. Durch Pilokarpin in geringer Dosierung läßt er sich nach einer Latenzzeit zu Eigenrhythmen anregen, die gelegentlich auch Phänomene wie Gruppen- und Periodenbildung wie in Abb. 6 zeigen. Der Tonus des Präparates

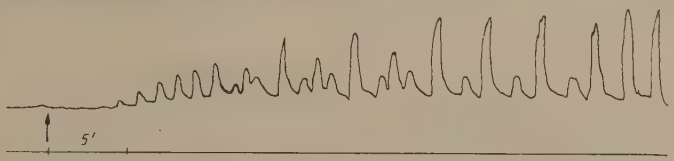


Abb. 6a.

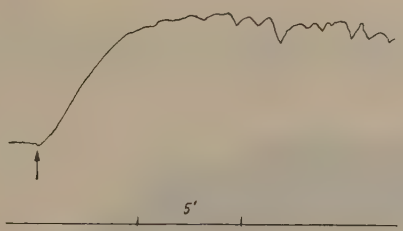


Abb. 6b.

Abb. 6. Isolierte aufgeschnittene Trachealringe, 2 Tage lang auf Eis aufbewahrt. Suspension in LOCKE-RINGER bei 37° C. a) Pilocarpin 10^{-7}: nach einer Latenzzeit beginnen rhythmische Eigenbewegungen, der Tonus steigt dabei praktisch nicht an. b) Acetylcholin 10^{-8}: starker Tonusanstieg, dann rhythmische Bewegungen.

steigt hierbei praktisch nicht an; erst bei höheren Pilokarpindosen stellt sich ein Tonusanstieg unmittelbar nach der Applikation ein, an den sich das Auftreten von Eigenbewegungen anschließt. Man ist aus diesen Versuchen zu dem Schluß geneigt, daß die Pilokarpinwirkung bei eben überschwelliger Dosierung in einer Anregung intramural gelegener Ganglienzellen[10] besteht, die für das Trachealpräparat gleichsam die Funktion eines „Reizbildungszentrums" (oder auch mehrerer) übernehmen und daß auf diese Weise ein Kippsystem (BETHE) in Gang gebracht wird.

Demgegenüber besteht die Azetylcholinwirkung in gleichfalls eben überschwelliger Dosierung an diesem Modell *stets* in einem primären Tonusanstieg, an den sich später erst Eigenrhythmen anschließen. Die unterschiedlichen Befunde zwischen dem Pilokarpin-Reiz = Rhythmusbildung und dem Azetylcholin-Reiz = Tonussteigerung + Rhythmusbildung passen sich zwanglos den heutigen Vorstellungen an von einer doppelten Azetylcholin-Wirkung mit einem nikotinähnlichen

= ganglionär-erregenden und einem muskarinähnlichen = peripher-erregenden Angriffspunkt. Beim Pilokarpinversuch kommt es nur zu einer Ganglienerregung, während die muskarinähnliche Komponente ganz zurücktritt.

Läßt man auf einen rhythmisch tätigen Trachealring Atropin oder Skopolamin einwirken (Abb. 7a), so fällt sofort der Tonus ab und die Eigenbewegungen sistieren. Buscopan in gleicher Konzentration hemmt elektiv die Rhythmen, ohne das Tonusniveau zu beeinflussen. Diese Analyse mag zeigen, daß Azetylcholin nicht mit Pilokarpin gleichzu-

Abb. 7a. Abb. 7b.

Abb. 7. Trachealringe von Hunden, aufgeschnitten, 2 Tage auf Eis aufbewahrt, Locke-Ringer. a) Scopolamin 10^{-7} hemmt den Rhythmus unter starker Tonussenkung. b) Buscopan 10^{-7} hemmt den Rhythmus; der Tonus bleibt praktisch unbeeinflußt.

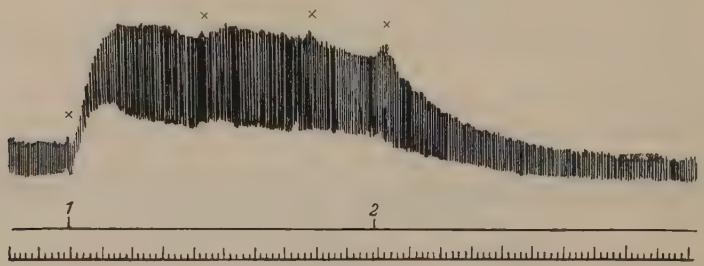


Abb. 8. Dekapitierte Katze, 2,140 kg. Blutdruck aus re. A. carotis, Membranmanometer. Zeitschreibung 10 sec. × = Krämpfe. Bei 1: 0,5 mg/kg Pilocarpin. Bei 2: 1,0 mg/kg Buscopan.

setzen ist[11], daß es auch bei der praktischen Auswertung von Spasmolytika gelegentlich nicht gleichgültig ist, ob man mit Pilokarpin oder Azetylcholin arbeitet und gibt auch eine Erklärung für das Verhalten des Buscopan am Darm.

2. Zuweilen gelingt es, bei der dekapitierten, nicht atropinisierten Katze durch Pilokarpin eine cholinergische Blutdrucksteigerung[8, 12, 13] zu erzeugen (Abb. 8). Diese Blutdrucksteigerung, die man sich durch die erregende Wirkung des Azetylcholins auf die Gefäßwandganglien entstanden denkt, kann nicht durch Atropin verhindert werden, sondern kommt erst unter dem Schutz des Atropins, das die muskarinähnliche blutdrucksenkende Wirkung des Azetylcholins unterdrückt, zum Vorschein. Durch Buscopan kann diese Blutdrucksteigerung nun wieder beseitigt werden (Abb. 8).

3. Aus den zwei vorstehenden Analysen der Buscopanwirkung konnte erschlossen werden, daß diese Substanz die ganglionär erregende Wirkungskomponente des Azetylcholins verblockt und also erregende Wirkungen des Nikotins antagonistisch beeinflußt. Dieser Nikotin-Antagonismus konnte nach der Methode von Tripod[35] gezeigt werden: Es wurde die Dosis Buscopan gesucht, die aus einer sicher tödlich wirkenden intravenösen Nikotingabe (1,25 mg/kg) bei weißen Mäusen eine LD 50 für Nikotin macht. Dies kann durch Vorbehandlung mit 33 mg/kg Buscopan s.c. erreicht werden; für Atropin und Skopolamin liegt die entsprechende Dosis bei 800 bzw. 1700 mg/kg.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Wie die pharmakologische Prüfung gezeigt hat, ist die Atropin-Skopolaminwirkung durch die Quaternisierung des Skopolamin-Stickstoffes und die Einführung eines Butylradikals in bemerkenswerter Weise verändert worden. Es ist ein Körper entstanden, der die klassische Blockadewirkung des Atropins und des Skopolamins gegenüber den muskarinähnlichen Azetylcholinwirkungen an den einfacheren muskuloglandulären Effektorsystemen nur noch in Andeutungen besitzt. Durch diese chemische Veränderung hat die Verbindung auch keinerlei Zuwachs an papaverinähnlicher „muskulotroper" Spasmolysewirkung erhalten, der sonst schnell bei Variationen des Atropin-Skopolamin-Modells und bei anderen spasmolytischen Estern auftritt. Vielleicht läßt sich die auffallende Wirkung des Buscopan noch am einfachsten erklären, wenn man annimmt, daß durch die chemische Abwandlung eine Nebenwirkung des Atropins, die nach bisheriger Auffassung keine oder nur eine ganz untergeordnete Rolle gespielt hat, nach neueren Befunden von Konzett und Rothlin[24] aber nicht zu übersehen ist, nämlich die Hemmung der cholinergischen Erregungsübertragung[9] in den Nerv-Nerv-Synapsen des vegetativen Nervensystems, zur Hauptwirkung geworden ist. Eine andere Nebenwirkung des Atropins, die in hohen Dosen in Erscheinung tretende Kurarewirkung des Atropins[5] ist beim Buscopan gleichfalls verstärkt und, verglichen mit den Zahlen der Literatur[22], rund 5mal stärker als die des Atropins. In guter Übereinstimmung hiermit stehen die Befunde von Kadatz[19], der am isolierten Froschrektus das Buscopan 5mal stärker gegenüber der Azetylcholinkontraktur fand als Atropin. Für diese besonderen Buscopanwirkungen kann nicht allein das Butylradikal verantwortlich gemacht werden; die analoge Atropinverbindung, bei der nur eine Sauerstoffbrücke fehlt und statt ihrer zwei Wasserstoffatome vorhanden sind, zeigt die Buscopaneigenschaften nicht mehr. Offenbar spielt die Gesamtanordnung im Molekül und auch die optische Aktivität die Hauptrolle. Durch die Quaternisierung wird auch die Wirkungsdauer, wie schon länger bekannt,

verkürzt und beträgt für das Buscopan rund die Hälfte von der des Atropins oder des Skopolamins; wie der Verlauf der Mydriasekurven bei der Maus (Methode Pulewka) aber zeigt, ist dies nicht durchgängig für alle untersuchten Verbindungen gültig.

Als Fazit unserer Buscopananalyse kann festgestellt werden, daß in dieser Substanz nicht mehr ein Mitglied der Atropin-Skopolamingruppe, sondern ein Repräsentant der Ganglienblocker vorliegt. Den bisher wichtigsten Vertreter dieser Körperklasse, das Tetraäthylammonium[6, 30], übertrifft es nicht nur um einige Zehnerpotenzen an geringerer Dosierung, sondern besonders noch in der Wirkung auf die vagalen Ganglien, ohne jedoch seine blockierende Wirkung auf die sympathischen Gefäßganglien (Abb. 8) verloren zu haben. Da in unseren Versuchen durch Buscopan auch Effekte der elektrischen Vagusreizung auf den Darm aufgehoben werden konnten, so muß man ihm einen Wirkungsmechanismus zusprechen, der sowohl über den des Atropins, das an diesem Organsystem unter den obigen Bedingungen wirkungslos ist[3, 7, 16, 26] als auch den des Tetraäthylammoniums hinausgeht[31].

Die beschriebene Antinikotinwirkung des Buscopan konnte auch von Hardt und Hotovy[15] mit anderer Methodik bestätigt werden. Unter den von ihnen untersuchten Substanzen hatte Buscopan bei Ratten den stärksten Effekt gegen Krämpfe, die durch intravenöses Nikotin erzeugt wurden: es hob die Krampfschwelle für Nikotin um 235%.

Aus der Ganglienblockade mag auch die Tatsache erklärt werden, daß das Buscopan besonders auf *die* Organe und Organsysteme einwirkt, die intramural einen selbständigen Nervenplexus besitzen, wie z. B. Bronchus[27] und Darm[1, 29] und die als Hohlorgane rhythmische Eigenbewegungen vollführen; demgegenüber tritt die Buscopanwirkung auf Auge, Speichelsekretion und Schweißsekretion (letztere wird am Menschen 1000mal schwächer als durch Atropin gehemmt, Kadatz[18]) ganz zurück.

Von besonderem Interesse ist noch, daß die Wirkung des Buscopan auf den Tonus an den von uns untersuchten Modellen so gering ist, während die Beeinflussung der rhythmischen Bewegungen ganz im Vordergrund steht. Schon durch länger zurückliegende Untersuchungen[17] ist auf die Unterschiede in der Tonus- und Rhythmuswirkung des Azetylcholins hingewiesen und darauf aufmerksam gemacht worden, daß Atropin nur den Tonus, nicht aber kontraktile rhythmische Mechanismen beeinflußt. Da unseres Wissens über die unterschiedliche pharmakologische Beeinflussung dieser verschiedenen Bewegungsvorgänge nichts Sicheres bekannt ist, bleibt uns nur übrig, an die verschiedenen Tetanus- und Tonussubstrate Bozlers[4] zu erinnern und die Vermutung auszusprechen, daß eine verschiedene pharmakologische Beeinflussung im oben erwähnten Sinne möglich sein muß.

Für die ärztliche Praxis kann vom Buscopan erwartet werden, daß es wegen seiner geringen Toxizität, seines großen Sicherheitsspielraumes und vor allem wegen des Fehlens störender Nebenwirkungen bei Spasmen von Magen, Darm,

Gefäßen usw. dämpfend und krampflösend wirkt; auch bei hoher und langdauernder Dosierung ist nicht zu erwarten, daß Atonien auftreten, wie sie z. B. bei hoher Atropindosierung bei der Behandlung des postenzephalitischen Parkinsonismus bekannt sind.

Zusammenfassung.

1. Eine Reihe von 9 quaternären Ammoniumverbindungen des Skopolamins wurde hinsichtlich Spasmolyse, Herzwirkung, Mydriasis, zentraler Wirkung und Toxizität vergleichend mit Atropin untersucht. Die n-Butyl-Verbindung = Buscopan zeichnet sich durch eine gute spasmolytische Wirkung (½—1 Atropin), Fehlen der zentralen Skopolaminerregung, geringe Pupillenwirkung ($^1/_{500}$ Atropin) und geringe Toxizität aus. Die Pulsbeschleunigung ist 30mal geringer als nach Atropin, die Speichelsekretionshemmung bei der Katze 50mal geringer als nach Atropin, während die broncholytische Wirkung beim Pilokarpinspasmus des Hundes der des Adrenalins gleicht, aber länger anhält.

2. Eine nähere Untersuchung des Buscopan zeigt, daß in ihm eine Verbindung vorliegt, die nicht gegen die muskarinähnlichen Effekte des Azetylcholins, sondern gegen die nikotinähnlichen ganglienerregenden Wirkungen des Azetylcholins gerichtet ist. So wird der Pilokarpinspasmus des isolierten Darmes in fast der gleichen Dosis gelöst wie durch Atropin; bei der Tonuszunahme des Darmes durch kleine Azetylcholindosen ist es rund 100—500mal schwächer als Atropin. Die cholinergische Blutdrucksteigerung sowohl als auch die Wirkung elektrischer Vagusreizung auf den Darm kann durch Buscopan unterdrückt werden.

3. Buscopan hat starke Antinikotineigenschaften und ist als Ganglienblocker zu bezeichnen. Es hat mit der Atropin-Skopolamingruppe keine wesentlichen Züge mehr gemein und gehört pharmakologisch zum Tetraäthylammonium, übertrifft dies aber sowohl relativ in der Wirkung auf das vagale System als auch absolut in der wirksamen Dosis.

Der Verfasser hat besonders Frl. Martha Waegelein zu danken, die einen großen Teil der Versuche, besonders die quantitativen Bestimmungen, ausgeführt hat.

Literatur.

[1] Auerbach, L.: Virchows Arch. **30** (1864). — [2] Bänder, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 217 (1949). — [3] Bayliss, W. M., and E. H. Starling: J. of Physiol. **24**, 99 (1899). — [4] Bozler, E.: Literatur bei O. Riesser: Erg. Physiol. **38**, 133 (1936). — [5] Brown, A. C., and T. R. Frazer: Trans. Roy. Soc. Edinburgh **25**, 693 (1869). — [6] Burn, J. H., and H. H. Dale: J. of Pharmacol. **6**, 417 (1915). — [7] Cushny, R.: J. of Physiol. **41**, 233 (1910). — [8] Dale, H. H.: J. of Pharmacol. **6**, 147 (1914). — [9] Dale, H. H.: J. of Physiol. **80**, 10P (1933). — Reizübertragung durch chemische Mittel im peripheren Nervensystem, Berlin-Wien 1935. — [10] Dixon, W. E., u. F. Ransom: Heffters Handb. II, 2. Teil 760. —

[11] Dreyer, N. B.: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 63 (1949). — [12] Forst, A. W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 261 (1943). — [13] Fromherz, K.: Festschrift E. Barrell, Basel 1946. — [14] Graubner, W., u. H. Wick: Arch. internat. Pharmacodynamie **84**, 337 (1950). — [15] Hardt, A., u. R. Hotovy: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 264 (1950). — [16] Henderson, V. E., u. O. Loewi: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **53**, 62 (1905). — [17] Henderson, V. E., u. M. H. Roepke: J. of Pharmacol. **51**, 97 (1934). — [18] Kadatz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 159 (1950). — [19] Kadatz, R.: unveröffentlicht. — [20] Kallós, P., u. W. Pagel: Acta med. Scand. (Stockh.) **91**, 292 (1937). — [21] Kärber, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 480 (1931). — [22] Kimura, K. K., K. Unna and C. C. Pfeiffer: J. of Pharmacol. **95**, 149 (1949). — [23] Konzett, H., u. R. Rössler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 71 (1940). — [24] Konzett, H., u. E. Rothlin: Helvet. Physiol. Acta **7**, C 46 (1949). — [25] Kürzel, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **127**, 335 (1928). — [26] Langley, J. N., and K. A. Anderson: J. of Physiol. **19**, 73 (1895). — [27] Larsell, O.: zit. nach Ph. Stöhr jr.: Das periphere Nervensystem in Handb. d. mikroskop. Anatomie d. Menschen, Bd. 4, 1. Teil, Berlin 1928. — [28] Magnus, R.: Pflügers Arch. **102**, 123 (1904). — [29] Meissner, G.: Z. rat. Med. (N.F.) **8**, (1857). — [30] Moe, G. K., and W. A. Freyburger: Pharmacol. Reviews **2**, No. 1 (1950). — [31] Moe, G. K., W. A. Freyburger, C. Gruhzit, B. R. Rennick, L. R. Capo, and E. G. Pardo, ferner M. J. Oppenheimer: zit. nach Moe and Freyburger [30]. — [32] Pulewka, P. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **168**, 307 (1932) und **180**, 119 (1936). — [33] Trendelenburg, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **63**, 161 (1910). — [34] Trendelenburg, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **81**, 55 (1917). — [35] Tripod, J.: J. of Pharmacol. **4**, 323 (1949). — [36] Wick, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 133 (1950).

Dr. Helmut Wick, Ingelheim a. Rhein,
Pharmakol. Labor. der Firma C. H. Boehringer Sohn.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 501—510 (1951).

Aus der Univ.-Kinderklinik, Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. F. Linneweh).

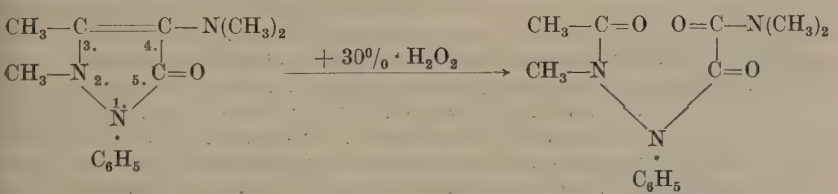
Zur Pharmakologie des „Dioxypyramidon".

Von
R. Koch.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. März 1951.)

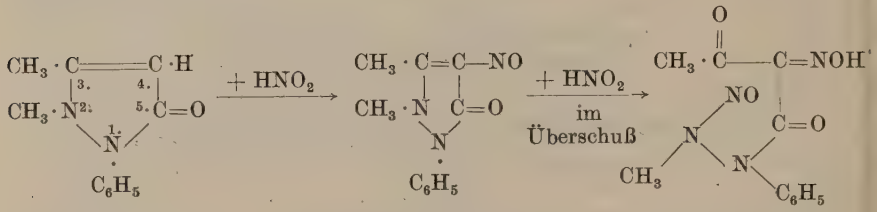
Beim Studium der älteren Literatur zur Frage der Toxikologie des Pyramidons stießen wir auf Veröffentlichungen der beiden französischen Autoren Charonnat und Delaby[1, 2]. Sie gingen bei ihren Arbeiten von dem Gedanken aus, daß gewisse N-Oxyde von Alkaloiden (Strychnin, Brucin usw.) weniger giftig sind als die Muttersubstanzen, ohne dabei in gleichem Maße andere pharmakologische Eigenschaften einzubüßen. Die Methode der Bildung eines N-Oxydes versuchten sie auf das Pyramidon zu übertragen, ebenfalls in der Hoffnung, einen weniger giftigen Körper unter Erhaltung der übrigen pharmakologischen Eigenschaften zu gewinnen. Sie bedienten sich des Perhydrols zur Oxydation, gelangten aber zu einem Körper, der im Gegensatz zu ihrem ursprünglichen Vorhaben kein N-Oxyd darstellte. Bei der Behandlung von 1-Phenyl-2,3-dimethyl-4-dimethylamino-5-pyrazolon (Pyramidon) mit 30%. H_2O_2 (Perhydrol) bildet sich nämlich unter Aufspaltung des Pyrazolonringes zwischen 3. und 4., sowie Anlagerung von 2 Atomen Sauerstoff ein ganz neuer Körper, dem die beiden Autoren den nicht ganz zutreffenden Namen „Dioxypyramidon" gaben.



Pyramidon „Dioxypyramidon"

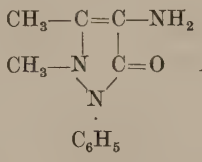
Daß es sich tatsächlich um den in der Formel dargestellten Körper handelt und nicht um ein N-Oxyd, konnten Charonnat und Delaby in ausgedehnten analytischen Untersuchungen nachweisen. Nicht zuletzt gelang ihnen auch die Synthese der neuen Substanz. Die beiden Autoren beschrieben eingehend die physikalischen und chemischen Eigenschaften des von ihnen gefundenen Körpers.

Die Oxydation des Pyrazolringes ist auch mit salpetriger Säure möglich, wobei es im Überschuß von HNO_2 zu einer Ringspaltung des Pyrazolonringes zwischen 2. und 3. kommt.



Antipyrin (I.) Nitroso-Antipyrin (II.) „Antipyrin-Nitrit" (III.)

Unter Einwirkung von $SnCl_2$ + HCl bildet sich aus III. sehr leicht Amino-Antipyrin (IV.) unter gleichzeitigem erneutem Ringschluß:



Amino-Antipyrin (IV).

Ähnliche Verhältnisse finden sich beim Pyramidon. Jedoch ist das sich bildende „Pyramidon-Nitrit" wesentlich unbeständiger. Bockmühl[3] hat diese Vorgänge zusammenfassend dargestellt. In letzter Zeit haben sich Awe und Stoy[4] mit der Oxydation von Antipyrin und Pyramidon durch Jod- und Bromsäure beschäftigt. Dieser Vorgang erfolgt so intensiv, daß es beim Pyramidon zur Abspaltung der Dimethylaminogruppe kommt, zur Aufspaltung des Pyrazolonringes unter Freisetzung von Stickstoff und zur Bildung von Trijodphenol, bzw. Tribromphenol und Tetrabromchinon aus dem in 1.-Stellung befindlichen Phenylrest. Eine ähnliche Reaktion beobachteten die Autoren beim Phenylhydrazin, wobei es ebenfalls unter Abspaltung von Stickstoff zur Bildung von Trihalogenphenolen kommt.

Charonnat und Delaby waren bei ihren Arbeiten von dem Gesichtspunkt der Toxizitätsminderung des Pyramidons ausgegangen. In ihren sehr ausführlichen chemischen Darlegungen finden sich nur spärliche Angaben über die pharmakologischen Eigenschaften des von ihnen gefundenen Körpers. Sie schreiben: „Die analgetischen und antitoxischen Eigenschaften des Pyramidons sind in dem neuen Derivat (Dioxypyramidon) erhalten geblieben; sie sind deshalb nicht spezifisch für den Pyrazolonkern, welcher im vorliegenden Fall geöffnet wurde. Das Dioxypyramidon besitzt außerdem noch hypnotische Eigenschaften, die das Pyramidon nicht besitzt. Außerdem hat das Dioxypyramidon eine wesentlich größere Löslichkeit als Pyramidon und seine Toxizität ist geringer." Angaben über durchgeführte Tierexperimente oder klinische Beobachtungen fehlen. Auch bei Durchsicht der neueren Literatur waren solche nicht zu finden. Lediglich Bockmühl[5] erwähnt in seiner Übersicht über die Entwicklung in der Pyrazolonreihe, daß die „angeblich besonderen Eigenschaften der Substanz", gemeint sind die pharmakologischen, nicht bestätigt werden konnten. Gleichzeitig verweist er darauf, daß er schon im Jahre 1924 bei einem in Frankfurt/M. gehaltenen Vortrag auf die Möglichkeit der Ringöffnung mit Hilfe von Superoxyden hingewiesen hätte.

Faßt man alles zusammen, so sind die pharmakologischen Daten im Gegensatz zu den chemischen sehr spärlich und außerdem noch widersprechend. Diese Tatsache veranlaßte uns das Dioxypyramidon einer näheren pharmakologischen Prüfung zu unterziehen, mit dem Ziel, es für die Brauchbarkeit in der Klinik zu untersuchen.

Experimenteller Teil.

Es stand uns für unsere Untersuchungen ein Präparat zur Verfügung, das nach den Vorschriften von Charonnat und Delaby aus Pyramidon (Hoechst) und Perhydrol gewonnen worden war. Bei der Kontrolle der Schmelzpunkte beobachteten wir einige geringe Abweichungen. Charonnat und Delaby verwendeten bei ihren Untersuchungen Pyramidon (Poulenc) und fanden unter Verwendung eines Quecksilberbades einen Schmelzpunkt von 107° C für Pyramidon und einen solchen von 105,5° C für Dioxypyramidon. Bei der Mischung beider ergab sich eine Depression unter 96,0° C. Im Schwefelsäurebad mit Kapillare beobachteten sie bei demselben Dioxypyramidonpräparat den Beginn der Schmelze bei 90° C und die vollständige Schmelze bei 96° C. Wir verwendeten bei unseren Beobachtungen die Mikroschmelzpunktbestimmung nach Kofler und konnten feststellen, daß das Dioxypyramidon den Beginn der Schmelze bei 95—96° C, Mitte (ölige Phase mit einzelnen Kristallfragmenten) von 96—99° C und vollständige Schmelze bei 99—103° C zeigte. Das Pyramidon (Hoechst) hatte demgegenüber einen sehr scharf bestimmbaren Schmelzpunkt von 103,5° C. Die Mischung beider Substanzen bot eine deutliche Schmelzpunktsdepression auf 85—91° C.

Im Gegensatz zu Charonnat und Delaby gelang es uns, nach Auflösung der reinen, pulverisierten Substanz in Wasser schöne Kristalle zu gewinnen. Wurde das Dioxypyramidon 20%ig in der Wärme vollständig gelöst und filtriert, so konnten wir nach tagelangem Stehenlassen bei Zimmertemperatur eine spontane Kristallisation beobachten, ohne daß Impfkristalle dazu notwendig waren. Die Kristallform entsprach der von den Autoren beschriebenen.

A. Toxizität: Da Charonnat und Delaby eine erhebliche Minderung der Toxizität für das Dioxypyramidon angeben, untersuchten wir zunächst diese.

Die Versuche wurden an weißen Mäusen derselben Zucht durchgeführt, wie wir sie für unsere Toxizitätsbestimmungen des Pyramidons[6] verwendet hatten. Dadurch war eine direkte Vergleichsmöglichkeit gegeben. Es wurde die DL. 50 bei intravenöser, subkutaner und peroraler Applikation bestimmt. Bei intravenöser und subkutaner Gabe gingen wir nach der mathematischen Methode von Behrens und Kärber[7, 8] vor, während bei der peroralen Testung die graphische Methode unter Zuhilfenahme des Wahrscheinlichkeitspapieres und der von Schellingschen Tafeln[9] zur Anwendung kam. Als tödlicher Effekt wurde nur derjenige gewertet, der innerhalb der ersten 24 Std nach Verabfolgung der Substanz eintrat.

Die durchschnittlichen Tiergewichte der Dioxypyramidon-Tiere waren etwas niedriger als diejenigen der entsprechenden Pyramidon-Tiere:

Applikationsform:	durchschnittl. Tiergewicht bei:	
	Pyramidon	Dioxypyramidon
intravenös	21,5 g	17,4 g
subkutan	23,1 g	15,7 g
peroral	21,2 g	19,1 g

Während bei der Untersuchung des Pyramidons intravenös eine 2%ige Lösung, subkutan eine 2%ige und 5%ige und peroral eine 20%ige Lösung verwendet wurde, wobei das Pyramidon in salzsaurer Lösung vorlag, kamen beim Dioxypyramidon die folgenden Lösungen zur Anwendung: intravenös eine 5%ige, subkutan und peroral eine 10%ige Lösung. Das Dioxypyramidon befand sich dabei als reine Substanz in Lösung und nicht in Form eines Salzes. Die verschiedenen Konzentrationen waren jeweils dem Dosisbereich angepaßt. Dadurch wurde einerseits den Tieren eine nicht zu große Flüssigkeitsmenge zugeführt, andererseits die Dosierungsmöglichkeit optimal gehalten.

Unsere Ergebnisse sind in den Tab. 1, 2 und 3 wiedergegeben.

Tabelle 1. Dioxypyramidon wurde als 10%ige Lösung subcutan gegeben.

Dosis in Gamma/g	tot	lebend
811	0	10
841	2	8
872	0	10
905	1	9
938	3	7
973	2	8
1010	4	6
1050	4	6
1090	3	7
1130	7	3
1170	9	1
1210	8	2
1260	8	2
1300	9	1
1350	10	0

Tabelle 2. Dioxypyramidon wurde als 5%ige Lösung intravenös gegeben.

Dosis in Gamma/g	tot	lebend
526	0	10
553	2	8
582	3	7
612	4	6
644	4	6
677	4	6
713	6	4
750	3	7
789	7	3
829	9	1
873	8	2
918	9	1
966	10	0

Obere und untere Grenze wurden durch weitere Tiergruppen hinreichend gesichert.

Im Gegensatz zu unserer Mitteilung über die Toxizität des Pyramidons[6] haben wir diesmal bei der graphischen Auswertung für die Abszissenachse den logarithmischen Maßstab gewählt, da dieses Vorgehen genauer ist. Der von uns ursprünglich angegebene Wert von 1,85 g/kg $\pm$ 0,03 g/kg Maus für die DL. 50 von Pyramidon bei peroraler Gabe erhöht sich dabei auf 1,883 g/kg $\pm$ 0,042 g/kg.

Aus Tab. 3 ist ersichtlich, daß die Ermittlung der DL. 50 des Dioxypyramidon infolge einer wesentlich größeren Streuung schwieriger war als unsere entsprechenden Untersuchungen beim Pyramidon.

Tabelle 3. Dioxypyramidon wurde als 10%ige Lösung per Sonde gegeben.

Dosis in mg/g	Zahl der Tiere in jeder Gruppe	Prozent der gestorbenen Tiere	Mutungsbereich X_1	Mutungsbereich X_2
1,00	In	4%	0,37%	31,99%
1,20	allen	4%	0,37%	31,99%
1,30	Gruppen	8%	1,27%	36,97%
1,35	wurden	12%	2,55%	41,57%
1,40	25 Tiere	48%	22,82%	74,24%
1,45	verwendet	32%	12,29%	61,23%
1,50		56%	28,83%	80,00%
1,55		44%	20,00%	71,17%
2,00		92%	63,03%	98,73%

Aus den von uns gefundenen Werten ergeben sich im Vergleich mit den beim Pyramidon mitgeteilten folgende Verhältnisse der toxischen Daten:

Tabelle 4.

Applikationsform:	DL. 50 bei der weißen Maus	
	Pyramidon	Dioxypyramidon
intravenös	0,184 g/kg ± 0,004 g/kg	0,698 g/kg ± 0,017 g/kg
subkutan	0,368 g/kg ± 0,008 g/kg	1,066 g/kg ± 0,019 g/kg
per os	1,883 g/kg ± 0,042 g/kg	1,631 g/kg ± 0,046 g/kg

Das *Vergiftungsbild*, das bei intravenöser, subkutaner und peroraler Applikation an Mäusen zu beobachten war, bot uns einen weiteren Einblick in den Wirkungsmechanismus des Dioxypyramidon. Während beim Pyramidon das Vergiftungsbild durch starke zentrale Erregung und Krämpfe[10] beherrscht wird, beobachtet man beim Dioxypyramidon eine narkotische Wirkung. Dieselbe wurde von CHARONNAT und DELABY als hypnotischer Effekt beschrieben.

Nach *intravenöser* Gabe des Dioyxpyramidon starben die Tiere bei toxischen Dosen meist schon 1—5 min post. inj., nur einzelne Tiere erst 3—4 Std später und ganz vereinzelt noch nach 24 Std. Bei Anwendung der absolut letalen Dosis trat der Tod im Laufe der ersten Minuten nach der Injektion immer ein. Das volle Vergiftungsbild setzte bei intravenöser Zufuhr sofort nach der Injektion ein. Es kam zu krampfartigen Zwerchfellkontraktionen, während die kostale Atmung nahezu aussetzte. Man konnte beobachten, wie die Tiere ihre Atemhilfsmuskulatur benutzten. Ob in diesem Zustand eine Schädigung des Atemzentrums vorlag, müßten erst weitere Untersuchungen klären. Nach der Injektion toxischer Dosen waren die Tiere sofort bewußtlos. Im Todeskampf kam es zu einem krampfartigen Wegstrecken der hinteren Extremitäten. — Waren die Dosen weniger toxisch, so kam es zu einer Forcierung der Zwerchfellatmung, die konvulsivische Wellen über das ganze Abdomen verursachte.

Die Tiere befanden sich in einer wechselnd tiefen Narkose, die in einzelnen Fällen bis zu 36 Std andauerte. Bei einer länger als 24 Std dauernden Narkose gingen die meisten Tiere infolge Unterkühlung und Nahrungsmangel zugrunde. Bei der histologischen Untersuchung der Lungen fanden sich keine pneumonischen Prozesse wie etwa bei der ähnlichen Barbituratvergiftung. Dagegen konnten wir in

den abhängigen Lungenpartien ein Emphysem beobachten, während sich in den oberen Blutungen fanden. Diese Blutungen mußten schon recht frühzeitig erfolgt sein, da schon nach 24 Std reichlich Hämosiderin zu finden war.

Bei Anwendung nicht tödlicher Dosen dauerte die beschriebene Zwerchfellatmung etwa 10—15 min, es trat keine Narkose ein, die Tiere waren vielmehr nach dieser Zeit wieder munter. Während der 10—15 min waren sie sehr unsicher im Laufen und zeigten einen feinschlägigen Tremor.

Im Verlaufe des narkotischen Stadiums zeigten die Mäuse noch längere Zeit einen „Stellreflex": Auf dem Bauch liegend verhielten sich die Tiere ganz ruhig, bei langsamer und gleichmäßiger Atmung. Wurden sie dagegen auf den Rücken oder die Seite gelegt, so setzten augenblicklich Laufbewegungen ein. Der Schwanz wurde dabei gestreckt und ständig um seinen Ansatz wie ein Zeiger gedreht.

Nach *subkutaner* Gabe trat der Tod bei den Mäusen etwa 100—200 min post inj. oder 4—8 Std später ein. Auszuschließen waren wiederum die Tiere, die erst nach über 24 Std dauernder Narkose zugrunde gingen. Die Injektion wurde anscheinend schmerzlos vertragen. 15—20 min post inj. zeigten die Tiere Unsicherheit im Gang, der schließlich nur noch ein Kriechen mit zittrigen, langsamen und unsicheren Bewegungen darstellte. Zwischendurch lagen die Mäuse auf dem Bauch mit leicht angezogenen Extremitäten und geschlossenen Augen. Dieser Zustand ging etwa 30 min post inj. in einen mittelgradigen allgemeinen Tremor über. Mitunter traten kurze uncharakteristische Krämpfe auf, wobei die Tiere hart auf die Unterlage schlugen. Vom Beginn der Intoxikationserscheinungen an waren alle Bewegungen planlos. Der Fluchtreflex erlosch schon sehr frühzeitig. Demgegenüber wurden die Mäuse gegen akustische Reize sehr empfindlich und bekamen als Antwort auf einen solchen Reiz einen kurzen klonischen Krampfzustand. Es muß aber betont werden, daß solche Krampfstadien, die die Muskulatur des Tieres gleichmäßig erfaßten, auch spontan und vollständig unabhängig von akustischen Reizen auftreten konnten. — Die bei der intravenösen Injektion des Dioxypyramidon so im Vordergrund stehende Zwerchfellatmung war zwar auch deutlich vorhanden, aber längst nicht so ausgeprägt. —

Etwa 40—90 min post inj. setzte bei subkutaner Applikation die narkotische Wirkung ein, die je nach der verwendeten Dosis verlief. Die Tiere waren gegen Schmerzreize (an Schnauze, Nase, Füßen und Schwanz) unempfindlich. Lediglich akustische Reize wurden noch eine ganze Zeit lang beantwortet, indem die Tiere zusammenzuckten. Bei niedrigen Dosen erholten sich die Mäuse nach 10—16stündiger Narkose wieder vollständig. Der oben beschriebene „Stellreflex" war auch hier zu beobachten. War die maximale Narkosetiefe noch nicht erreicht, so fuhren die Tiere von Zeit zu Zeit spontan und kurz zusammen, auch wenn keine akustischen Reize sie trafen.

Im ausgesprochen toxischen Dosenbereich, in der Nähe der absolut letalen Dosis, konnten Dauernarkosen von 48—84 Std beobachtet werden. Es bestand dabei eine langsame, regelmäßige und tiefe Atmung, bei deutlicher Zyanose der Akren. Der „Stellreflex" war bei diesen Tieren noch 24—36 Std nach Beginn der Narkose nachweisbar.

Bei den leichten Intoxikationen, den subletalen Dosen, trat das „Zwerchfellkonvulsivische"-Stadium etwas mehr in den Vordergrund. Die Narkose erreichte hierbei nicht die Tiefe und Dauer. Man könnte mehr von einer hypnotischen Wirkung sprechen. Dieselbe dauerte etwa 6—8 Std.

Nach *peroraler* Gabe des Dioxypyramidon fanden wir ein Vergiftungsbild, das im wesentlichen die gleichen Züge hatte wie bei subkutaner Applikation. Der Eintritt des Todes erfolgte 2—24 Std nach Verabfolgung der Substanz. Bei später sterbenden Tieren spielten die Folgen der langen Narkose wiederum eine unüber-

sehbare Rolle. Je nach der Höhe der Dosis setzte die perorale Vergiftung 5—25 min nach durchgeführter Sondierung ein. Der Narkoseeintritt erfolgte etwas später, meist erst in der 3. Stunde. Trat der Tod innerhalb der ersten 24 Std in Narkose ein, so erfolgte er entweder ganz unauffällig oder im Verlauf einer kurzen Krampfphase.

Öffnete man ein in Narkose befindliches Tier, so war die Harnblase prall mit Urin gefüllt.

B. Blutdruckwirkung: Wir hatten früher darauf verwiesen[10], daß man bei der intravenösen Gabe von Pyramidon eine deutliche Blutdrucksenkung feststellen kann. Starkenstein, Hendrych und Escobar-Bardoy[11] beobachteten dagegen ein leichtes Ansteigen des Blutdruckes bei Dosen, die noch keine Krämpfe auslösten, während Krampfdosen

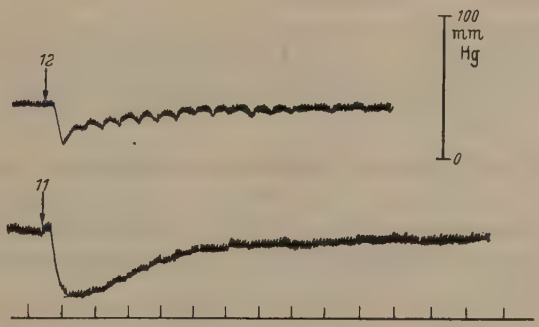


Abb. 1. Versuchstermin: 25. 5. 50.; Katze: 3,2 kg Gew.; Pernoctonnarkose: 0,5 cm³/kg i. m.; Atropin: 0,5 mg/kg i. m.; Zeitschreibung: 60 sec. Quecksilbermanometer: Bei 11: 1,0 cm³ Dioxypyramidonlsg. 10% = 0,1 g; 12: 0,2 cm³ Pyramidonlsg. 10% = 0,02 g.

denselben deutlich ansteigen ließen. Es gelang uns nicht diese Beobachtung zu wiederholen. Wir gingen dabei in der Dosierung soweit, daß wir Katzen ganz kurzfristig aus der Pernoctonnarkose erweckten. In allen Fällen sahen wir nur Blutdrucksenkungen.

Es war naheliegend nach diesen Beobachtungen am Pyramidon auch das Dioxypyramidon einer entsprechenden Prüfung zu unterziehen. Wir konnten dabei feststellen, daß auch dem Dioxypyramidon blutdrucksenkende Eigenschaften zukommen.

Abb. 1 zeigt die Blutdrucksenkung nach intravenöser Gabe von Pyramidon und Dioxypyramidon. Das Dosis-Wirkungsverhältnis beider Körper entspricht nach weiteren Versuchen etwa: Pyramidon : Dioxypyramidon = 1 : 3 bis 1 : 5, wobei für die Bewertung dieses Verhältnisses nur der Abfall des Druckes in mm Hg gewertet wurde. Es gilt aber festzuhalten, daß der Senkungseffekt beim Dioxypyramidon länger anhält, im allgemeinen etwa 6—12 min bei den hier verwendeten Dosen. (Wir verzichten aus Raumersparnis auf die Darstellung weiterer Kurven, die z. B. das Verhältnis 1 : 3 wiedergeben.)

Wir stellten weitere Beobachtungen an nicht narkotisierten Kaninchen an, denen eine 10%ige Dioxypyramidonlösung intravenös gegeben wurde. Hierbei injizierten wir bis zu 4 cm³ = 0,4 g Dioxypyramidon. Die

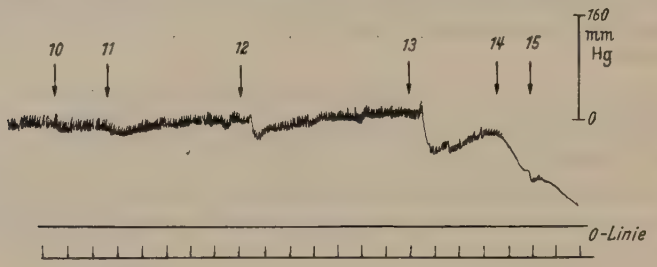


Abb. 2. Versuchstermin: 16. 3. 50.; Katze: 2,9 kg Gew.; Pernoctonnarkose: 0,5 cm³/kg i. m.; Zeitschreibung: 60 sec; O-Linie = Nullinie des Quecksilbermanometers; bei: 10. 0,3 cm³ Dioxypyramidonlsg. 10%. = 0,03 g; 11. 0,6 cm³ Dioxypyramidonlsg. 10% = 0,06 g; 12. 1,0 cm³ Dioxypyramidonlsg. 10% = 0,10 g; 13. 2,0 cm³ Dioxypyramidonlsg. 10% = 0,20 g; 14. Atemstillstand; 15. 0,3 ccm Lobelin 0,3% = 0,001; alle Injektionen intravenös.

Tiere zeigten trotz schneller Injektion kein auffälliges Verhalten. Demgegenüber sahen wir an der mit Pernocton narkotisierten Katze eine wesentlich größere Empfindlichkeit. (Abb. 2 stellt einen solchen Fall dar.)

Obgleich dieselbe Menge wie dem Kaninchen injiziert wurde, trat der Tod durch Lähmung des Atemzentrums ein.

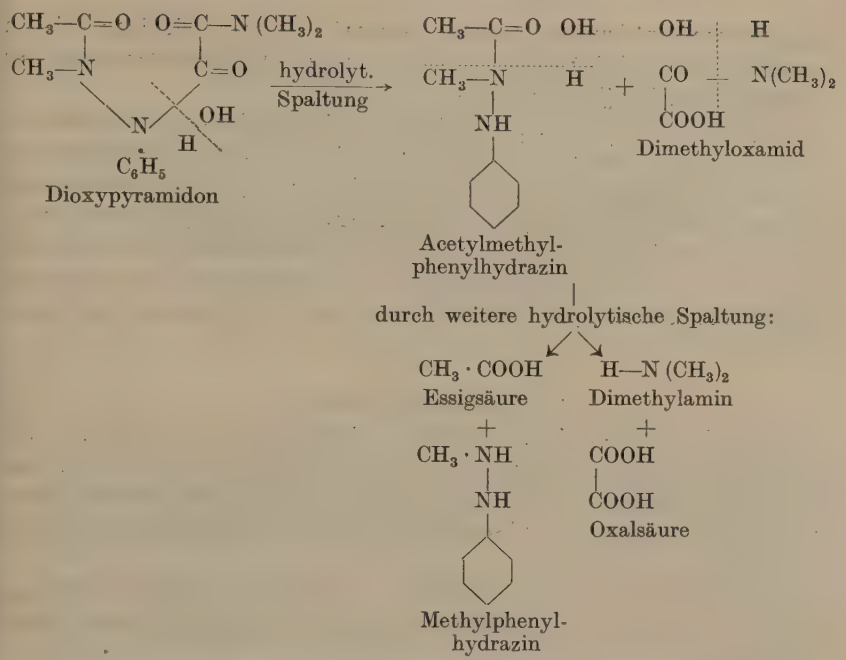
Besprechung der Ergebnisse.

Aus der Gegenüberstellung der Werte für die DL. 50 in Tab. 4 ergibt sich, daß das Dioxypyramidon sowohl bei intravenöser als auch subkutaner Anwendung deutlich weniger giftig ist als das Pyramidon. Dabei wird etwa ein Dosis-Wirkungsverhältnis von Pyramidon : Dioxypyramidon wie 1 : 3 gewahrt. Bei der peroralen Applikation liegen die Werte für beide Substanzen dicht beieinander. Das Dioxypyramidon erscheint hierbei etwas giftiger. Um zu klären, ob es sich tatsächlich um eine Differenz handelt, wurde nach der Formel:

$$sD = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$$

der Wert für die signifikante Differenz = 4,05 berechnet. Es ergibt sich nach der Tabelle von Fisher[12] eine signifikante Differenz. Das heißt, daß im Gegensatz zur parenteralen Anwendung das Dioxypyramidon bei enteraler etwas giftiger ist als das Pyramidon. Inwieweit hier die vollständige Passage des zugeführten Pharmakon durch die Leber von Bedeutung ist, kann noch nicht beantwortet werden.

In einer folgenden Mitteilung werden wir darauf eingehen, speziell im Hinblick auf die Möglichkeit einer Hydrolyse des Dioxypyramidon. Dieselbe ist allerdings bisher nur bei der Alkali- und Säurehydrolyse in vitro nachgewiesen worden.



Unter Freisetzung von Dimethyloxamid kommt es zur Bildung von Azetylmethylphenylhydrazin, aus dem die Essigsäure durch weitere hydrolytische Spaltung noch austreten kann, so daß sich Methylphenylhydrazin bildet. Es besteht also die theoretische Möglichkeit, daß das Dioxypyramidon im Organismus aufgespalten wird und sich Phenylhydrazinabkömmlinge bilden, die als Methämoglobinbildner zu fürchten sind. Unsere bisher vorliegenden Untersuchungen, die später ausführlich dargestellt werden sollen, zeigen nach parenteraler Zufuhr von Dioxypyramidon nur eine sehr geringe Methämoglobinbildung in vivo, die meist die Fehlergrenze der Methode kaum überschreitet. — Das Dimethyloxamid wird bei der Säure- und Alkalihydrolyse in vitro weiter zerlegt in Dimethylamin und Oxalsäure. Ob der gleiche Vorgang im Organismus möglich ist, kann ebenfalls nicht beantwortet werden. — Beide Fragen, die eventuelle Bildung von Methylphenylhydrazin oder Oxalsäure sind für die Toxikologie des Dioxypyramidon von großer Bedeutung.

Die Angaben von Charonnat und Delaby lassen sich hinsichtlich der parenteralen Toxizität bestätigen, nicht dagegen für die enterale.

Das Vergiftungsbild des Dioyxpyramidon ist ein ganz anderes als das des Pyramidon. Der zentral dämpfende, von Charonnat und Delaby als hypnotisch beschriebene Effekt steht vollständig im Vordergrund. Die Analyse des von uns beobachteten „Körperstellreflex“ dürfte weiteren Einblick in den Narkoseablauf bei toxischen Dosen gewähren.

Wie das Pyramidon, so besitzt auch das Dioxypyramidon einen blutdrucksenkenden Effekt. Das Dosis-Wirkungsverhältnis entspricht annähernd dem der parenteralen Giftigkeit beider Körper. Wir sehen dagegen die Blutdrucksenkung nach Dioxypyramidon länger anhalten. Die

Dauer dieser Blutdruckerniedrigung entspricht etwa derjenigen Zeit, in der sich Mäuse nach intravenöser Injektion nicht tödlicher Dosen wieder vollständig erholen (je nach Dosis 6—15 min).

Wir konnten beobachten, daß gleiche Dosen Dioxypyramidon an einem in Pernoctonnarkose befindlichen Tier anders wirken als am wachen Tier. Es kommt bei ersterem leichter zu einer Lähmung des Atemzentrums. Wir möchten diese Wirkung als eine gleichgerichtete von Pernocton und Dioxypyramidon erklären. Dementsprechend wäre eine Kombination von Dioxypyramidon und Barbituraten mit gewisser Vorsicht zu betrachten, solange die beschriebene Beobachtung nicht ganz geklärt ist.

Zusammenfassung.

1. Das Dioxypyramidon erscheint bei Bestimmung der DL. 50 an Mäusen bei parenteraler Applikation weniger giftig als Pyramidon. Das Dosis-Wirkungsverhältnis Pyramidon : Dioxypyramidon beträgt etwa 1 : 3. Demgegenüber ist das Dioxypyramidon per os gegeben giftiger als Pyramidon.

2. Die Angaben von Charonnat und Delaby können bestätigt werden, daß dem Dioxypyramidon ein hypnotisch-narkotischer Effekt zukommt.

3. Das Dioxypyramidon senkt bei intravenöser Gabe wie das Pyramidon den Blutdruck; das Dosis-Wirkungsverhältnis ist hier wie bei der parenteralen Toxizität ebenfalls durchschnittlich 1 : 3 für Pyramidon : Dioxypyramidon.

Die blutdrucksenkende Wirkung des Dioxypyramidon hält länger an als die des Pyramidon.

4. Wie bei den Toxizitätsbestimmungen so kann auch bei den Blutdruckuntersuchungen eine das Atemzentrum lähmende Wirkung beobachtet werden.

Literatur.

[1] Charonnat, R., u. R. Delaby: Bull. Sci. pharmacol. **37**, 7, 75 (1930). — [2] Charonnat, R., u. R. Delaby: C. r. Acad. Sci. Paris **189**, 850, 1285 (1929). — [3] Bockmühl, M.: Medizin u. Chemie, „Bayer"-Leverkusen/Rh. Bd. III, 294 (1936). — [4] Awe, W., u. E. Stoy: Naturwiss. **37**, 452 (1950). — [5] Bockmühl, M.: Medizin u. Chemie, „Bayer"-Leverkusen/Rh. Bd. I, 169 (1933). — [6] Koch, R.: Med. Klin. **45**, 661 (1950). — [7] Behrens, B., u. G. Kärber: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 480 (1931). — [8] Behrens, B., u. G. Kärber: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 379 (1935). — [9] v. Schelling, H.: Arb. Inst. exper. Ther. Frankf. **37**, 28 (1939). — [10] Koch, R., u. A. Hübner: Med. Klin. **44**, 1571 (1949). — [11] Starkenstein, E., F. Hendrych u. J. Escobar-Bardoy: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 486 (1934). — [12] Fisher, R. A.: zit. nach J. H. Burn: Biolog. Auswertungsmethoden, J. Springer, Berlin 1937.

Dr. R. Koch, Marburg/Lahn, Deutschhausstr. 12, Univ.-Kinderklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 511—515 (1951).

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Bickenbach).

Über die Abhängigkeit der Gewebsatmung des Endometrium vom Zyklus*.

Von
H. Burger und W. Kunz.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. April 1951.)

In vitro-Versuche mit Progesteron am Endometrium, über die in einer vorausgegangenen Arbeit berichtet wurde, zeigten uns, daß das Progesteron den Sauerstoffverbrauch sowohl der proliferativen als auch der sekretorischen Phase zu hemmen vermag. Ein Vergleich der ohne Progesteronzusatz gewonnenen Mittelwerte des proliferativen und des sekretorischen Endometrium ergab einen in der Sekretionsphase deutlich verminderten Sauerstoffverbrauch (Abb. 1), so daß wir annehmen dürfen, daß das Eigenprogesteron der Frau in der Lutealphase gleichartige Wirkungen entfaltet, wie wir sie in vitro mit reinem Progesteron hervorrufen konnten. Die von uns ermittelten Ergebnisse des endometriellen Sauerstoffverbrauchs im Verlauf des Zyklus stehen jedoch im Widerspruch zu den Arbeiten, die sich bisher mit dieser Fragestellung befaßt haben (Raab, Adler), so daß es notwendig erscheint, eine Klärung der Diskrepanz der Ergebnisse herbeizuführen.

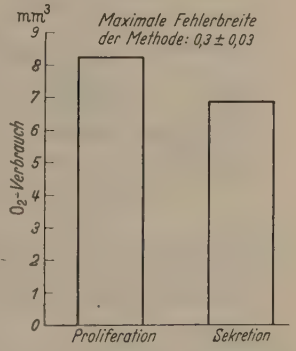


Abb. 1. Sauerstoffverbrauch der proliferativen und sekretorischen Schleimhaut in 1 Std. Sammelwerte aus 62 Untersuchungen.

Raab, der als erster den Sauerstoffverbrauch und die aerobe und anaerobe Glykolyse des Endometrium im Warburg-Apparat prüfte und dessen Ergebnisse in der Literatur allgemein anerkannt sind, fand einen kontinuierlichen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs von der Frühproliferation bis zur Spätsekretion und ein gerade entgegengesetztes Verhalten der anaeroben Glykolyse. Adler dagegen kam auf Grund seiner Untersuchungen zur Ablehnung der Raabschen Befunde und zu der Ansicht, daß der Stoffwechsel des Endometrium in beiden Zyklusphasen annähernd gleich sei und keine eindeutige Abhängigkeit vom ovariellen Zyklus erkennen lasse.

* Herrn Prof. Butenandt danken wir für seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Methodische Gründe mögen hauptsächlich für die abweichenden Ergebnisse verantwortlich sein, so daß es notwendig erscheint, sich näher mit ihnen auseinanderzusetzen, um damit die Unterschiede der Versuchsergebnisse aufzuklären.

Von uns wurde nur der Sauerstoffverbrauch des Endometrium nach der Methode Warburgs bestimmt, bei welcher die Kohlensäure durch Kalilauge absorbiert wird, und zwar aus zweierlei Gründen: Erstens zeigt die Atmung eine wesentlich größere Konstanz als die Glykolyse (Hess), war also für die sichere Beantwortung unserer Problemstellung in besonderem Maße geeignet und zweitens hatte Adler in Vergleichsuntersuchungen gezeigt, daß die von Raab angewandte Methode, die es erlaubt, Atmung und Glykolyse gleichzeitig zu bestimmen, inkonstante und viel zu hohe Sauerstoffwerte ergibt und damit zur Bestimmung von Absolutwerten ungeeignet ist. Eine weitere Erklärung der von den eigenen Ergebnissen abweichenden Resultate Raabs und Adlers liegt möglicherweise in der unterschiedlichen Beschaffenheit der für die Untersuchungen verwandten Suspensionsmedien. Die eigenen Versuche wurden fast ausschließlich in der von Warburg angegebenen Bikarbonat-Ringer-Lösung und im Serum *einer* einzigen Frau durchgeführt, die schon lange in der Menopause war, um den Einfluß der Sexualhormone auf den Sauerstoffverbrauch möglichst auszuschalten. Das durch Aderlaß gewonnene Serum diente dabei als Medium für alle Untersuchungen, die in Serum vorgenommen wurden. In Vergleichsuntersuchungen überzeugten wir uns davon, daß die Atmungsgrößen in Ringer-Lösung keine Unterschiede gegenüber denen in follikelhormonarmem Serum zeigten, so daß auf weitere Serumuntersuchungen verzichtet werden konnte. Jedenfalls konnte die in Ringer-Lösung angenommene Schädigung (Raab) nicht festgestellt werden. Wir befinden uns mit unserer Meinung in Übereinstimmung mit den Arbeiten von Druckrey, der einen konstanten Sauerstoffverbrauch des Gewebes in Ringer-Lösung über Stunden beobachten konnte. Dagegen untersuchte Raab in Serum, das zum Teil längere Zeit vor der Gewinnung der Schleimhaut von der gleichen Frau entnommen wurde, und Adler in Retroplazentarblut, das größere Mengen von Follikelhormon enthalten kann (Nedz-

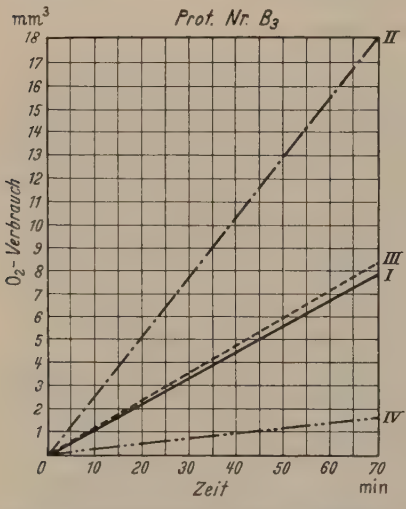


Abb. 2. Atmungskurve einer glandulär-cystischen Hyperplasie des Endometrium. *I* Normalserum; *II* Schwangerenserum; *III* Serum + Östradiol; *IV* Serum + Progesteron.

VETSKAYA). Durch die Arbeiten von DIRSCHERL wissen wir jedoch, daß die Gewebsatmung durch die Sexualhormone wesentlich beeinflußt wird. Auch die eigenen Versuche, die mit Schwangerenserum als Suspensionsflüssigkeit vorgenommen wurden, ergaben, daß die Atmungsgröße durch Flüssigkeiten, die reich an Hormonen sind, besonders verändert wird. In gleicher Weise zeigen die Untersuchungen von KISCH, REINWEIN und SINGER, daß die Größe der Gewebsatmung vom Untersuchungsmedium maßgeblich beeinflußt werden kann. Sie konnten feststellen, daß die Oxydationsgröße des Gewebes durch eine Reihe von Elektrolyten und Metaboliten erheblich verändert wird, deren Mischungsverhältnis im Serum der Frau beträchtlichen physiologischen Schwankungen unter-

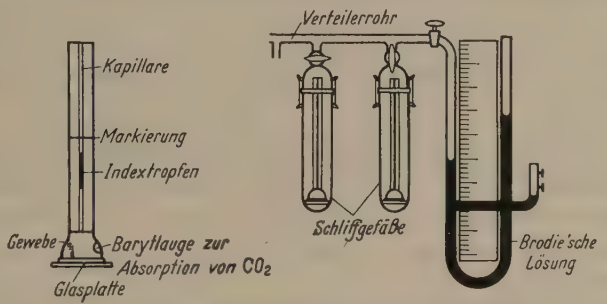


Abb. 3. Schematische Darstellung des Mikrorespirometers.

liegt. Auf Grund dieser Arbeiten lassen sich Bedenken dagegen geltend machen, Vergleichsuntersuchungen unter sehr unterschiedlichen Bedingungen vorzunehmen.

Wie ausgeprägt diese Beeinflussung durch das verwandte Untersuchungsserum sein kann zeigt Abb. 2. Der Sauerstoffverbrauch des in Serum von graviden Frauen suspendierten Gewebes übersteigt die Vergleichsprobe, die in follikelhormonarmem Serum gewonnen wurde, um 60 %.

Zur Überprüfung unserer mit der WARBURG-Apparatur erhaltenen Ergebnisse wurde ein neuerdings entwickeltes Mikrorespirometer herangezogen (siehe Abb. 3). Die Methode besitzt den Vorteil, daß für eine Bestimmung nur sehr wenig Gewebe benötigt wird, so daß es möglich ist, homogene Stücke auszuwählen und der Grenzschnittdicke ohne schädigende Präparation des Gewebes gerecht zu werden. Außerdem kann eine größere Anzahl von Parallelversuchen durchgeführt werden (insgesamt 10), wodurch es möglich ist, die Genauigkeit der Mittelwerte zu erhöhen. Das Mikrorespirometer stellt eine Modifikation der manometrischen Methode WARBURGS dar und eignet sich für die Untersuchung von kleinen Gewebsmengen.

Das eigentliche Reaktionsgefäß besteht dabei aus einem Kapillarrohr, dessen Kapillare (Durchmesser 0,3 mm) auf einer Seite zu einer Kammer von 100—150 cm^3

erweitert ist. Der untere Rand dieser Kammer ist etwas verbreitert und plangeschliffen, wodurch der luftdichte Abschluß der Kammer vermittels eines eingefetteten Glasplättchens ermöglicht wird. Das Gewebe befindet sich während der Messung in einem Tropfen der Suspensionsflüssigkeit, der an der Kammerwand haftet. Bei der direkten Messung der Atmung muß die Kammer mit einer dünnen Paraffinschicht überzogen werden, um ein Zusammenlaufen des Suspensionstropfens mit dem zur Absorption des CO_2 eingebrachten Barytlaugetropfens zu vermeiden. Der Gaswechsel in der Kammer wird durch einen Indextropfen angezeigt, der durch ein Wassermanometer jeweils auf die Markierung eingestellt werden kann. Zur Verbindung mit dem Wassermanometer werden die Atmungskapillaren in Schliffgefäße aufgenommen, die an einem Verteilerrohr befestigt sind. Durch Hähne wird es ermöglicht, die Kommunikation gerade des Gefäßes mit der Meßvorrichtung herzustellen, dessen Druck gemessen werden soll. Die Anordnung der Apparatur ist aus der Abb. 3 ersichtlich. Als Sperrflüssigkeit in dem Manometer wird Brodiesche Lösung verwandt, die neben NaCl, choleinsaures Natrium, einige Tropfen Thymol und etwas Eosin enthält. 10000 mm Brodie-Lösung entsprechen dabei einem Wasserdruck von 760 mm Hg. Der Gaswechsel in der Atmungskapillare kann dann aus der jeweiligen Veränderung der Höhendifferenz zwischen linkem und rechtem Manometerschenkel nach der Warburgschen Formel berechnet werden.

Mit dieser Methode ist es möglich, je nach Größe der Atmungskammer, einen Gaswechsel von $1—2 \times 10^{-2}$ mm³ zu erfassen. Bei einem durchschnittlichen Atmungsquotienten von 6—8 mm³ O_2 für Endometrium erwies es sich als vorteilhaft, Gewebestücke von etwa 0,5 mg Trockengewicht zu verwenden.

Die aus 184 Einzelwerten gewonnenen Ergebnisse ließen einen deutlichen Unterschied der Atmungsgrößen der proliferativen und sekretorischen Schleimhaut erkennen im Sinne der mit der Warburg-Methode ermittelten Werte. Die Ergebnisse konnten nicht nur unter Berücksichtigung der methodischen Fehlerbreite gesichert werden, sondern auch bei einer Gegenüberstellung des Kollektivs der Proliferation und des Kollektivs der Sekretion, obwohl bekannt ist, daß die absoluten Sauerstoffwerte des Endometrium verschiedener Individuen erheblich voneinander abweichen. Die Stoffwechselherabsetzung der sekretorischen Phase gegenüber der proliferativen Phase betrug 38,53% $\pm$ 17,28, die Abweichung der proliferativen Phase betrug $\pm$ 16,68.

Auf Grund der ermittelten Ergebnisse glauben wir uns zu der Annahme berechtigt, daß der Sauerstoffverbrauch des Endometrium vom ovariellen Zyklus abhängig ist. Höheren Atmungswerten in der Proliferation stehen geringere in der Sekretion gegenüber. Unsere Befunde stehen im Einklang mit neueren Untersuchungen von Randall u. Mitarb., die den Einfluß unterschiedlicher Sauerstoffspannungen auf Endometriumgewebekulturen prüften. Während das proliferative Endometrium nur bei hohem Sauerstoffgehalt ungeschädigt erhalten werden konnte, gelang dies beim sekretorischen Endometrium in einer viel geringeren Sauerstoffatmosphäre, teilweise sogar unter anaeroben Bedingungen. Auch konnte Dirscherl bei seinen Versuchen über die Beeinflussung des

Stoffwechsels durch die Sexualhormone zeigen, daß die Atmung in einer gewissen Abhängigkeit zur anaeroben Glykolyse steht. Diese Ergebnisse stellen ein weiteres Gegenargument gegenüber den Befunden von Raab dar, der ein entgegengesetztes Verhalten von Glykolyse und Atmung im Verlauf des Zyklus feststellen konnte.

Zusammenfassung.

1. Der Stoffwechsel des Endometrium wird von der zyklischen Funktion des Ovarium bestimmt. Höheren Sauerstoffwerten in der Proliferation stehen geringere Werte in der Sekretionsphase gegenüber. Die Atmungsherabsetzung in der Lutealphase kommt wahrscheinlich durch das Eigenprogesteron der Frau in diesem Zyklusabschnitt zustande.

2. Unsere Befunde stimmen mit denen von Raab und Adler erhobenen nicht überein. Methodische Gründe dürften dafür verantwortlich sein.

3. Die im Warburg-Apparat ermittelten Werte konnten durch Kontrollversuche mit einem Mikrorespirometer bestätigt werden.

Literatur.

Adler, K.: Arch. Gynäk. **141**, 306 (1930). — Burger, H., u. W. Kunz: Arch. Gynäk. **179**, 660 u. 672 (1951). — Dirscherl, W., u. K. H. Hauptmann: Biochem. Z. **320**, 228 (1950). — Druckrey: Dtsch. med. Wschr. **1943**, 619. — Hess, W.: Frankf. Z. Path. **42**, 104 (1930). — Kisch: Biochem. Z. **220**, 99 (1930); **237**, 238 (1931); **238**, 351 (1931); **242**, 26 (1931); **242**, 436 (1931); **244**, 451 (1932); **247**, 365 (1932); **264**, 406 (1933); **271**, 420 (1934). — Nedzvetskaya, M. J.: Akus. i. Ginek. **6**, 24 (1938). — Ber. Gynäk. **38**, 287 (1939). — Raab, E.: Arch. Gynäk. **138**, 726 (1929). — Randall, I. H., R. J. Stein and M. v. Stiemer: Amer. J. Obstetr. **60**, 711 (1950). — Warburg, O.: Stoffwechsel der Tumoren. Berlin: Springer 1928.

Dr. H. Burger, Tübingen, Univ.-Frauenklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 516—536 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover (Direktor: Professor Dr. R. Völker).

Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Novocains und Pantocains bei intravenöser Injektion.

Von

D. Krause.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1951.)

Der Wirkungsmechanismus des Novocains* bei intravenöser Injektion ist noch nicht als völlig geklärt anzusehen, wie ein Überblick über die umfangreiche, von Laubender[20], Söhring[34] und zuletzt von Eichholtz[4] referierte und ausgewertete Literatur zeigt. Wir haben versucht, durch eine Wirkungsanalyse zur Klärung der Novocainwirkungen auf das autonome Nervensystem beizutragen. In einer größeren Arbeitsreihe wurde die Beeinflussung der Wirkungen von Überträgerstoffen (Azetylcholin, Arterenol, Adrenalin) sowie des Veratrins durch Novocain am Blutdruck und am „in situ" befindlichen Darm von Hunden untersucht. Daneben wurde eine geringere Anzahl von Untersuchungen am Blutdruck von dekapitierten Katzen und an isolierten Därmen durchgeführt.

Um eine brauchbare Vergleichsgrundlage zu erhalten, wurden Pantocain, sowie teilweise Kokain und außerdem das Abbauprodukt des Novocains, das Diäthylaminoäthanol in die Prüfungen einbezogen. — Aus vorwiegend praktischem Interesse wurde auch das Kombinationspräparat Melcain, eine 1%ige Lösung von Novocain in M_2 (gereinigter Honiglösung), vergleichend mit Novocain untersucht.

Methodik.

Die Versuche wurden an 173 Hunden und 4 Katzen durchgeführt. Zum Studium des Einflusses der Narkose wurden verschiedene Betäubungsarten verwandt. Zur Betäubung dienten: Chloralose (0,12 g/kg i.v.), Chloralose-Urethan (0,08 g/kg Chloralose + 0,25—0,5 g/kg Urethan i.v.), Morphin-Chloralose (2 mg/kg Morphin i.m. + 0,07—0,1 g/kg Chloralose i.v.), Morphin (10 mg/kg i.m.), Polamidon (3 mg/kg i.v.) und Morphin-Pernocton (2 mg/kg Morphin i.m. + 0,05 g/kg Pernocton i.m. oder 2 mg/kg Morphin i.m. + 0,025—0,035 g/kg Pernocton i.v. bis zur Erreichung vollständiger Reflexlosigkeit).

43 Versuche wurden an dekapitierten Hunden durchgeführt. Die Dekapitierung erfolgte bei 23 Hunden operativ unter Evipan-Narkose; 20 Hunde erhielten statt der operativen Dekapitierung unter flacher Evipan-Narkose eine subokzipitale Injektion von 10 cm^3 einer 20%igen Trichloressigsäurelösung. Die „Dekapitierung"

* Arterenol, Novocain, Pantocain — Warenzeichen der Farbwerke Hoechst.

durch Injektion von Trichloressigsäure bietet beim Hund den Vorteil, daß alle Präparate nach dem Eingriff, der das ZNS sicher ausschaltet, noch einen guten Ausgangsblutdruck haben. — Die Dekapitierung der Katzen erfolgte mit dem Écraseur de Chassaignac.

Der arterielle Blutdruck wurde mit einem Hg-Manometer oder mit einem Hebel-Federmanometer nach Frank-Petter aus der Art. Carotis registriert. — Die Darmtätigkeit wurde nach der von Straub[36] für Meerschweinchen beschriebenen Methodik mit einem Wassermanometer fortlaufend aufgezeichnet. Diese Methode hat sich in unseren Versuchen beim Hunde in Chloralose-Narkose als brauchbar erwiesen; Voraussetzung für eine gute Darmtätigkeit ist eine rasche störungsfreie Vornahme des operativen Eingriffs und eine 1—2stündige Wartezeit bis zum Beginn des Versuches. Empfehlenswert ist eine vorhergehende Entwurmung der zu derartigen Versuchen bestimmten Hunde.

Die Versuche an isolierten Darmstreifen wurden sämtlich nach der Methodik von Magnus durchgeführt.

Die Dauerinfusionen erfolgten mit einer durch einen Synchronmotor getriebenen Rekordspritze.

1. Eigenwirkungen der Lokalanästhetika.

Die Wirkung des *Novocains* auf den Blutdruck unbeeinflußter Tiere war wenig einheitlich und nicht signifikant. Bei Hunden in reflexloser Morphin-Pernocton-Narkose kam es nach Novocaindosierungen von 1—20 mg/kg stets zu Blutdrucksenkungen, die bei den höheren Dosen stärker ausgeprägt und anhaltender waren. — Bei intakten Hunden in flacher Chloralose- oder Chloralose-Urethan-Narkose war die Novocainwirkung wechselnd, neben flüchtigen Blutdrucksenkungen wurden nach Dosierungen von 3—10 mg/kg auch 2—10 min anhaltende Blutdrucksteigerungen um Werte bis zu 20 mm Hg beobachtet; die Herzfrequenz wurde dabei in jedem Falle, wenn auch meist nur vorübergehend, gesteigert. Unter Morphin-Chloralose waren derartige Blutdrucksteigerungen regelmäßig zu erhalten. Bei intakten Hunden im Polamidonschlaf führten 5—15 mg/kg Novocain regelmäßig zu einer 2—15 min anhaltenden Steigerung des Blutdrucks und der Herzfrequenz, die in einigen Fällen weitgehend normalisiert wurde. — Bei Verwendung des Morphinschlafs war die Blutdruckwirkung des Novocains ähnlich wie unter Polamidon, aber flüchtiger.

Bei atropinisierten und vagotomierten Hunden in Chloralose-Narkose wirkte Novocain (5—20 mg/kg) in der Regel blutdrucksenkend, es muß aber erwähnt werden, daß bei flacher Narkose und einem nicht zu hohen Ausgangsblutdruck auch flüchtige Blutdrucksteigerungen beobachtet wurden. Diese, erst nach einer größeren Zahl von Versuchen festgestellte Möglichkeit ist bei den orientierenden Versuchen von Witte[39] aus unserem Institut noch nicht erwähnt. Bei den dekapitierten Hunden und Katzen bewirkten 5—10 mg/kg Novocain in der Regel flüchtige Blutdrucksenkungen, gelegentlich wurden sekundär geringfügige Steigerungen beobachtet.

Das Kombinationspräparat Melcain wirkte bei den Versuchen von Lillo[20] in allen Fällen, außer an atropinisierten Tieren, stärker blutdrucksenkend als Novocain. Diese Wirkung dürfte auf den im M_2 enthaltenen, von Koch[17] festgestellten cholinergischen Faktor zurückzuführen sein.

Pantocain (1—2 mg/kg) bewirkte bei tief narkotisierten und dekapitierten Hunden stets eine flüchtige Blutdrucksenkung, gelegentlich auch eine Erniedrigung des Blutdruckplateaus. Bei intakten Hunden in Chloralose-Narkose sowie im Polamidon- oder Morphinschlaf führte Pantocain in der Regel zu einer 2—10 min anhaltenden Blutdrucksteigerung um 10—30 mm Hg. Die Herzfrequenz wurde dabei beschleunigt, aber niemals so stark wie nach Novocain. Atropin (0,1—0,2 mg/kg intravenös) war ohne wesentlichen Einfluß auf die Wirkung, nach Vagotomie war die Blutdrucksteigerung am eindeutigsten. Bei wiederholter Applikation von Pantocain oder nach direkt vorhergehender Verabreichung von Novocain wurde die Blutdrucksteigerung geringer und konnte schließlich ganz ausfallen. Nach Ausschaltung der Karotis-Sinus-Gebiete durch Abklemmen der Karotiden wirkte Pantocain stets blutdrucksenkend.

Die Tätigkeit des „in situ" befindlichen *Darmes* wurde durch Novocaindosierungen unter 5 mg/kg nicht immer beeinflußt, gelegentlich kam es zu einer flüchtigen *Hemmung* von *Tonus* und *Bewegungen*. Nach höheren Dosierungen war die Hemmung ausgesprochener und regelmäßig zu erhalten. Förderung der Darmbewegungen, wie sie Adler und Üri[2] berichtet haben, konnte am Hunde bei guten Präparaten nie beobachtet werden. Lediglich bei zwei als „nicht gelungen" bezeichneten, tonuslosen Präparaten bewirkte Novocain eine flüchtige Tonussteigerung, ohne die Bewegungen nachhaltig zu fördern. — An isolierten Därmen von Meerschweinchen, Ratten und Hunden wirkte Novocain in Konzentrationen über 10^{-5} regelmäßig tonussenkend und hemmend auf die Bewegungen, dabei war die Wirkung stets annähernd proportional der einwirkenden Novocainkonzentration. Das Kombinationspräparat Melcain wirkte schwächer tonussenkend als Novocain und nur wenig hemmend auf die Bewegungen.

Nach Pantocain (1—2 mg/kg) reagierte der in situ befindliche Hundedarm meist nur mit einer mäßigen vorübergehenden Tonussenkung; stärker ausgeprägte Tonussenkung und Hemmung der Bewegungen wurde nach Pantocain nur bei vagotomierten Hunden beobachtet, wo auch die Karotis-Sinus-Entlastung eine stärkere Darmwirkung aufwies. An isolierten Präparaten wirkte Pantocain qualitativ und quantitativ wie Novocain.

Besprechung.

Die Wirkung von Novocain erscheint bei den hier verwandten Dosierungen in wesentlichen Punkten nicht gleichartig. *Novocain* wirkte

besonders dann *blutdrucksteigernd*, wenn ein durch die Betäubungsart experimentell induzierter *hoher Vagustonus* mit ausgesprochener Bradykardie vorlag, z. B. im Polamidonschlaf. In tiefer Narkose, sowie nach Vagotomie oder Atropin, also nach Ausfall des zentralen oder des peripheren Vagustonus, war Novocain fast stets blutdrucksenkend und nur in Ausnahmefällen blutdrucksteigernd wirksam. — *Pantocain* wirkte dagegen gerade bei vagotomierten Hunden mit Sicherheit blutdrucksteigernd. Da diese Blutdrucksteigerung nach Ausschaltung des Karotis-Sinus sowie in tiefer Narkose und nach Dekapitierung ausfällt, kann man annehmen, daß die blutdrucksteigernde Wirkung des Pantocains auf einer *Lähmung der Rezeptorenfelder im Karotis-Sinus* beruht. — Es hat weiter den Anschein, als ob auch die Stärke der darmhemmenden Wirkung des Pantocains in Beziehung zu der Wirkung auf den Karotis-Sinus steht.

2. Die Beeinflussung adrenergischer Wirkungen.

Eine Verstärkung der blutdrucksteigernden Adrenalinwirkung durch Novocain haben erstmalig Hatcher und Eggleston[10] am Hund im Morphinschlaf festgestellt; Steidle und Wiemann[35] konnten diesen Befund am Hund in Morphin-Urethan-Narkose bestätigen. Für eine sichere Verstärkung der Adrenalinwirkung auf den Blutdruck war eine Novocaindosis von 10 mg/kg und möglichst gleichzeitige Injektion mit dem Adrenalin erforderlich. Während einer Adrenalin-Blutdrucksteigerung bewirkte Novocain einen nochmaligen Anstieg, wenn die Adrenalinwirkung auf den Blutdruck noch vorhanden war. — In den Versuchen von Orzechowsky[22, 23] an dekapitierten Katzen kam es nach Novocain zu einer Verstärkung der Adrenalinwirkung bis zu 500%, die Wirkungsverstärkung durch Kokain ging demgegenüber nur bis zu 300%. Adler und Üri[2] haben diese Befunde an 12 Katzen, von denen ein Teil dekapitiert wurde, qualitativ, aber nicht quantitativ bestätigt. Orzechowsky führt die Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Novocain auf eine ephedrinähnliche Sensibilisierung adrenergisch innervierter Strukturen zurück und versucht, hiermit auch die therapeutischen Effekte der intravenösen Novocaininjektion zu erklären. Eine theoretische Erklärungsmöglichkeit für diese Annahme könnte die von Heim[13] festgestellte Hemmung der Aminoxydase durch Novocain abgeben. — Die Auffassung von Orzechowsky steht im Widerspruch mit den Ergebnissen von Schaumann[29, 30], der am peripheren Gefäßpräparat und am Hund festgestellt hat, daß Novocain der gefäßverengernden Adrenalinwirkung entgegenwirkt, während Kokain sie wie Ephedrin verstärkt. Nach der Interpretation von Söhring[34] sind diese Befunde nicht so widersprechend, wenn man die Befunde von Hauschild und Landbeck[11] heranzieht, wonach das bei der Novocainverseifung auftretende Abbauprodukt *Diäthylaminoäthanol* die Empfindlichkeit isolierter Durchströmungspräparate für Adrenalin erheblich steigert. Für diese Auffassung fehlt bislang eine Beweisführung am Blutdruck. Eine Einwirkung auf die Aminoxydase kommt dem Diäthylaminoäthanol im Gegensatz zum Novocain nach Heim[14] nicht zu.

Raymond-Hamet[27] nimmt auf Grund der Tatsache, daß Kokain in seinen Versuchen sowohl für die pressorische wie auch für die depressorische Adrenalinwirkung sensibilisierte, an, daß der Grund für die Adrenalinsensibilisierung durch Kokain und andere Lokalanästhetika in einer Abschwächung der vom Karotis-Sinus ausgehenden vasomotorischen Reflexe liegt.

Eindeutiger als am Blutdruck ist der Synergismus zwischen Adrenalin und Lokalanästhetika bei Toxizitätsprüfungen nachgewiesen. Die Toxizitätssteigerung durch Kombination beider Stoffe wurde von Taubmann und Jung[37] sowie Eichholtz und Hoppe[5] bei intravenöser Injektion nachgewiesen. Ölkers[26] und Schaumann[31] konnten diesen Befund auch bei subkutaner Injektion erheben. Weitere klinische und experimentelle Befunde zu dem Problem bringt Rohkrämer[28], ohne eine theoretisch befriedigende Erklärung für die „Sensibilisierung des sympathischen Systems" durch Novocain geben zu können.

Die Reaktion des „in situ" befindlichen Darmes auf Adrenalin wurde in Versuchen von Hazard[12] durch Novocain kaum beeinflußt. An isolierten Därmen konnte McGregor[24] zeigen, daß kurzfristige Vorbehandlung mit Novocain den Eintritt der Adrenalinwirkung verhindert.

In unseren eigenen Versuchen an 23 dekapitierten Hunden und 4 dekapitierten Katzen ist uns eine Reproduktion der Ergebnisse von

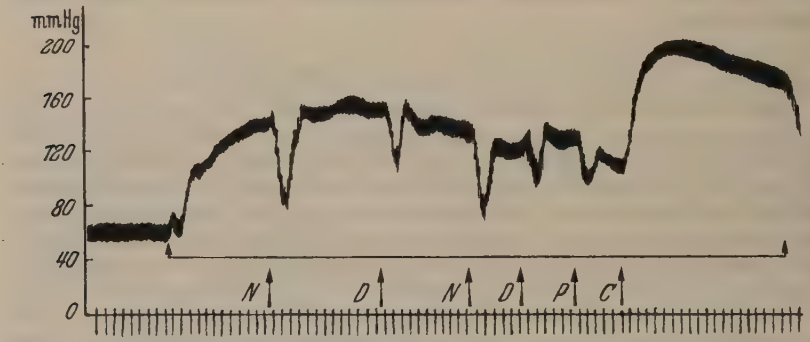


Abb. 1. *Wirkung von Novocain, Diäthylaminoäthanol, Pantocain und Kokain während einer Adrenalin-Dauerinfusion am dekapitierten Hund* (6,2 kg). — Blutdruck mit einem Hg-Manometer aus der Art. Carotis. — Zeit in 15 sec. — N = 62 mg Novocain. hydrochloric.; D = 62 mg Diäthylaminoäthanol hydrochloric.; P = 12,4 mg Pantocain; C = 6,2 mg Cocain. hydrochloric.; die horizontale Linie zeigt die Zeitdauer der Adrenalin-Dauerinfusion (10 γ/min).

Orzechowski nicht gelungen. Während einer *Dauerinfusion* von Adrenalin oder Arterenol wirkten Novocain (5—20 mg/kg), Diäthylaminoäthanol (10 mg/kg) und Pantocain (1—2 mg/kg) stets blutdrucksenkend; dabei waren 10 mg/kg Novocain in jedem Falle intensiver wirksam als 10 mg/kg Diäthylaminoäthanol oder 2 mg/kg Pantocain (s. Abb. 1). Nach hohen, mehrfach wiederholten Gaben von Novocain und Pantocain blieb gewöhnlich eine Erniedrigung des Blutdruckniveaus zurück. — *Kokain* (0,25—1 mg/kg) verursachte dagegen stets eine erhebliche Erhöhung des durch die Adrenalin-(Arterenol-)Dauerinfusion eingestellten Blutdruckplateaus. Diese Wirkung trat auch dann ein, wenn kurz zuvor Novocain, Pantocain und Diäthylaminoäthanol verabfolgt waren, sie fiel aber aus oder war sehr schwach, wenn im Verlauf des Versuches schon einmal Kokain verabreicht worden war.

Die blutdrucksteigernde Wirkung der *Einzelinjektionen* von Adrenalin und Arterenol wurde in 8 Versuchen an dekapitierten Hunden durch

5—20 mg/kg Novocain oder 1—2 mg/kg Pantocain nicht signifikant verändert. In 7 Versuchen konnte nach Verabreichung von 10 bis 20 mg/kg Novocain oder 1—2 mg/kg Pantocain eine geringfügige Verstärkung oder Verlängerung der pressorischen Wirkung von Adrenalin und Arterenol festgestellt werden. Diese geringfügige Verstärkung konnte durch Steigerung der Dosis oder zusätzliche Gabe des anderen Lokalanästhetikums nicht weiter gesteigert werden, im Gegenteil wurde bei weiterer Verabreichung von Novocain und Pantocain die Adrenalinwirkung mäßig abgeschwächt. — Diäthylaminoäthanol ergab bei Dosierungen von 10 mg/kg in 5 Versuchen keine deutliche Veränderung

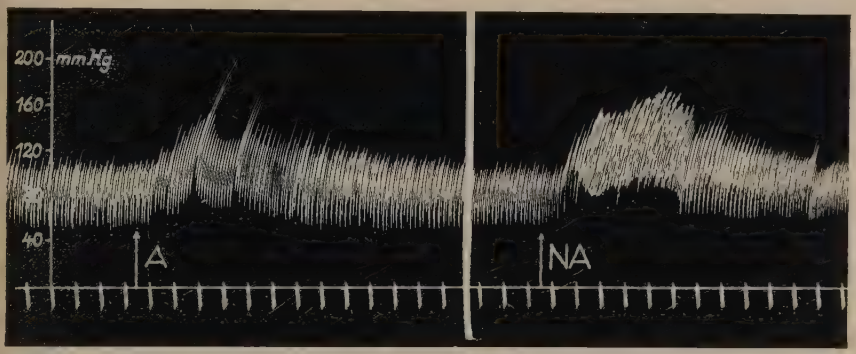


Abb. 2. *„Adrenalinsensibilisierung" durch Novocain am Hund (10,2 kg) in Morphinschlaf.* Blutdruck mit einem Hebel-Federmanometer aus der Art. Carotis. — Zeit in 15 sec. — Zwischen den beiden Abschnitten der Kurven sind 10 min herausgeschnitten. *A* = 20 γ l-Arterenol; *NA* = 20 γ l-Arterenol + 100 mg Novocain. hydrochloric.

der blutdrucksteigernden Wirkung von Adrenalin- oder Arterenol-Einzelinjektionen. — Kokain (0,25—1 mg/kg) vermochte in sämtlichen Versuchen auch dann noch die typische und erhebliche Verstärkung der Adrenalin- und Arterenolwirkung hervorzurufen, wenn kurz vorher Novocain, Pantocain und Diäthylaminoäthanol verabreicht worden waren.

Eine eindeutige Verstärkung der pressorischen Wirkung von Adrenalin und Arterenol durch Novocain und Pantocain konnte nur an intakten Hunden in flacher Chloralose- oder Morphin-Chloralose-Narkose sowie im Polamidon- oder Morphinschlaf erzielt werden; bei Verwendung der Chloralose-Urethan-Narkose wurden unsichere Ergebnisse erhalten. Die Verstärkung der blutdrucksteigernden Wirkung von Einzelinjektionen war im Morphinschlaf am deutlichsten, also in der Anästhesieform, die auch in den grundlegenden Versuchen von Hatcher und Eggleston[10] verwandt wurde. Die Wirkung war um so deutlicher, je kürzer der Zeitabstand zwischen der Novocain- oder Pantocaingabe und der Adrenalininjektion war, am sichersten war sie bei der Misch-

injektion. Ohne Zugabe von Novocain oder Pantocain zeigten sich kleine Adrenalin- oder Arterenolgaben während der durch Morphin hervorgerufenen zentrogenen Bradykardie fast wirkungslos und führten zu verstärkter Bradykardie. Bei gleichzeitiger Injektion von Adrenalin oder Arterenol mit Novocain (10 mg/kg) oder Pantocain (1 mg/kg) kam es zu ausgeprägter Blutdrucksteigerung bei gleichzeitiger Beschleunigung der Herzfrequenz (s. Abb. 2).

Am klarsten war die Verstärkung der Adrenalin- und Arterenolwirkung zu erhalten, wenn Novocain (5—20 mg/kg) oder Pantocain (1—2 mg/kg) während einer Arterenoldauerinfusion injiziert wurden.

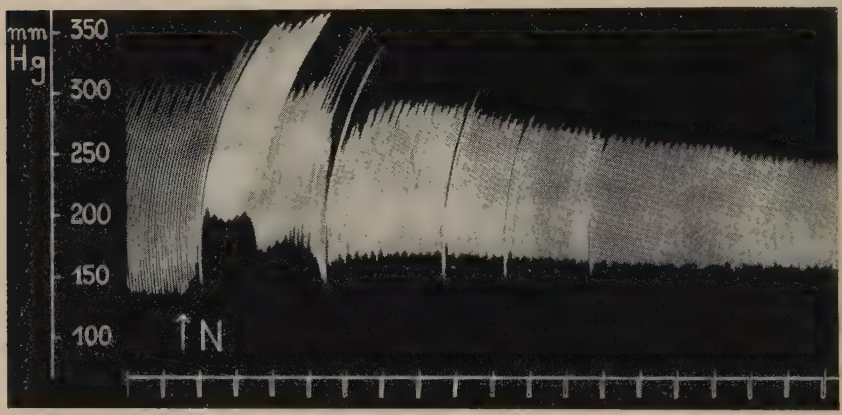


Abb. 3. *Novocainwirkung während einer Dauerinfusion von Arterenol am intakten Hund (7,9 kg) in Morphin-Chloralose-Narkose.* Blutdruck mit einem Hebel-Federmanometer aus der Art. Carotis. — Zeit in 15 sec. — Zustand während einer Dauerinfusion von rac. Arterenol (25 γ/min). — *N* = 50 mg Novocain. hydrochloric.

Hierbei kam es nach Novocain und Pantocain zu einer sofortigen Beschleunigung der Herzfrequenz und — nach gelegentlicher kurzer primärer Blutdrucksenkung — zu vorübergehenden, oftmals erheblichen Blutdrucksteigerungen (s. Abb. 3).

Praktisch wichtig erscheint die Tatsache, daß das Kombinationspräparat Melcain, das einen gefäßerweiternden cholinergischen Faktor enthält, während einer Dauerinfusion von Arterenol oder Adrenalin an Hunden in Chloralose-Narkose zwar die reflektorische Bradykardie aufhob, aber dabei nicht wie reines Novocain zu zusätzlicher Blutdrucksteigerung, sondern im Gegenteil zu einer Erniedrigung des Blutdruckniveaus führte.

An *atropinisierten* (0,5—10 mg/kg) und *vagotomierten Hunden* wirkte *Novocain* (5—10 mg/kg) während einer Dauerinfusion von Arterenol oder Adrenalin mit einer Ausnahme wie bei den dekapitierten Hunden, stets *blutdrucksenkend*, wobei unter Umständen sogar das Blutdruckplateau erniedrigt werden konnte; *Kokain* (0,25—1 mg/kg) bewirkte unter den gleichen Umständen *stets* eine *Erhöhung* des Blutdruckplateaus.

Die blutdrucksteigernde Wirkung von Einzelinjektionen von Adrenalin und Arterenol wurde durch 10 mg/kg Novocain in der Regel geringfügig verstärkt, diese Wirkungsverstärkung stand aber in keinem Verhältnis zu der Wirkungsverstärkung, die ohne Atropin oder bei erhaltenen Vagi eintrat und ging, bezogen auf das Flächenintegral der Blutdrucksteigerung, nicht über 15% hinaus.

Pantocain verhielt sich anders als Novocain und führte auch an atropinisierten und vagotomierten Hunden während einer Dauerinfusion von Arterenol oder Adrenalin zu mehr oder weniger ausgeprägten zusätzlichen Blutdrucksteigerungen. Die Wirkung der Einzelinjektionen von Arterenol und Adrenalin wurde an atropinisierten und vagotomierten Hunden durch Pantocain verschiedenartig beeinflußt. Wenn die nach Pantocain eintretende Blutdrucksteigerung mäßig war, so konnte die Adrenalin- bzw. Arterenolwirkung geringgradig verstärkt sein; wenn die Eigenwirkung von Pantocain auf den Blutdruck intensiv war, vermochten Adrenalin und Arterenol kaum noch eine zusätzliche Blutdrucksteigerung hervorrufen, so daß die Wirkung abgeschwächt erschien. In diesem Zusammenhang mag daran erinnert werden, daß auch während einer Karotis-Sinus-Entlastung durch Abklemmen der Karotiden Arterenol keine Blutdrucksteigerung mehr hervorruft und Adrenalin blutdrucksenkend wirkt (Raymond-Hamet[27], Krause[18]).

Die Beeinflussung der depressorischen Wirkung von Adrenalin durch Pantocain und Novocain wurde an yohimbinbehandelten Hunden untersucht. Mehrfache Gaben von 20 mg/kg *Novocain* oder 2 mg/kg Pantocain sowie Einzelgaben von 10 mg/kg *Pantocain*, die reflektorische Blutdrucksenkungen mit Sicherheit verhindern, sind *ohne Einfluß auf die depressorische Wirkungskomponente des Adrenalins*. Die Abb. 5 veranschaulicht diese Verhältnisse, weitere Kurvenbelege sind in den Arbeiten von Becker[3] und Witte[39] enthalten.

An „in situ" befindlichen und isolierten Därmen konnten die oben zitierten Befunde von Hazard[12] und McGregor[24] einwandfrei bestätigt werden.

Besprechung.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, daß eine eindeutige *Verstärkung der pressorischen Wirkung von Adrenalin und Arterenol durch Novocain und Pantocain nur bei völlig intakter Gegenregulation*, insbesondere bei erhaltener Vagusfunktion, zu erzielen ist. Diese Wirkung setzt sofort ein und ist von kurzer Dauer, kann also nicht auf das Wirksamwerden von Spaltprodukten zurückgeführt werden. Außerdem läßt sich die von Hauschild und Landbeck beschriebene und von Söhring als maßgeblich angenommene Adrenalinsensibilisierung durch Diäthylaminoäthanol am Blutdruck nicht reproduzieren, so daß das *Spaltprodukt Diäthylaminoäthanol für die Adrenalinsensibilisierung durch*

Novocain bedeutungslos erscheint. Ein *peripherer kokainähnlicher Mechanismus* — eine Sensibilisierung der Effektorzellen für Adrenalin und Arterenol — konnte in den Versuchen an dekapitierten und tief narkotisierten Tieren, wo eine signifikante Verstärkung der Adrenalinwirkung nicht zu erhalten war, *ausgeschlossen* werden.

Ein spezifischer Angriffspunkt des Novocains an den adrenergisch innervierten Strukturen erscheint auch deshalb unwahrscheinlich, weil Kokain schon in sehr geringen Dosen kurz nach hohen Dosierungen von Novocain, Pantocain und Diäthylaminoäthanol noch die übliche Verstärkung der Adrenalinwirkung verursachte; wenn aber das spezifisch wirksame Kokain im Verlauf eines Versuches schon einmal verabreicht war, so war es, — in Übereinstimmung mit älteren Autoren, — schwierig, noch ein zweites Mal eine Adrenalinsensibilisierung durch Kokain zu erhalten.

Demnach kann die „*Adrenalinsensibilisierung*" *durch Novocain* und *Pantocain* bei intakten Tieren nur auf eine *Abschwächung der Gegenregulation* zurückgeführt werden. Diese könnte auf verschiedenen Ursachen beruhen: 1. Eine Erregbarkeitsverminderung der sensiblen Endigungen in den Rezeptorenfeldern, von denen die Gegenregulation ihren Ausgang nimmt. Die Wirkung der Lokalanästhetika auf sensible Rezeptorenfelder kann im Veratrinversuch schon für geringe Novocaindosierungen nachgewiesen werden und ist für größere Dosen von Novocain und für Pantocain auch mit Hilfe der Karotis-Sinus-Entlastung (s. u.) nachweisbar. — 2. Eine zentrale Sperrung des blutdrucksenkenden und herzschlagverlangsamenden Reflexbogens. Diese Möglichkeit ist theoretisch zweifellos vorhanden, kann aber in unseren Versuchsanordnungen nicht von einer peripheren Dämpfung der sensiblen Rezeptorenfelder abgegrenzt werden. — 3. Eine periphere anticholinergische Wirkung. Diese kommt dem Novocain in den zur „Adrenalinsensibilisierung" im Tierexperiment notwendigen Dosierungen sicher zu (s. u.) und könnte beteiligt sein. — Bei den in unseren Versuchsanordnungen eingesetzten Pantocaindosierungen erscheint die periphere anticholinergische Wirkungskomponente allerdings zu geringfügig, um bei der „Adrenalinsensibilisierung" wesentlich mitzuwirken.

Der schwächere Ausfall, bzw. das Fehlen der „Adrenalinsensibilisierung" durch Novocain und Pantocain nach Vagotomie oder Atropinisierung erklärt sich zwanglos mit der durch diese Eingriffe abgeschwächten Gegenregulation.

Die gelegentlich beobachtete geringfügige Verstärkung der Wirkung von Adrenalin- und Arterenol-Einzelinjektionen an dekapitierten Tieren durch Novocain und Pantocain ist schwierig zu erklären. Ein kokainähnlicher Mechanismus kommt aus den oben angeführten Gründen nicht in Betracht. Als wahrscheinliche Ursache dieser, bei den meisten Versuchstieren überhaupt fehlenden, undeutlichen Verstärkung kommt nach dem Ergebnis unserer Veratrinversuche (s. u.), wo nach Veratrinbehandlung der Präparate eine derartige Verstärkung der Adrenalin-

wirkung durch Pantocain und Novocain signifikant wurde, in erster Linie eine Abschwächung peripher ablaufender depressorischer Kreislaufreflexe in Betracht.

In den Versuchen über die Beeinflussung der Adrenalin- und Arterenol-Dauerinfusionen an dekapitierten, tief narkotisierten, atropinisierten und vagotomierten Hunden konnte die Auffassung von SCHAUMANN[29, 30], wonach Novocain an den Effektorzellen schwach und flüchtig antiadrenergisch, aber nicht adrenalinsynergistisch wirkt, grundsätzlich bestätigt werden. Pantocain (1—2 mg/kg) ist in dieser Hinsicht vergleichsweise schwächer wirksam als 5—10 mg/kg Novocain; dies entspricht der in dieser Arbeit allgemein festgestellten Tatsache, daß Pantocain in Dosierungen, die, getestet am BEZOLD-JARISCH-Reflex, stärker wirksam sind, als Novocain, erheblich geringere Wirkungen auf die Effektorzellen hat.

3. Beeinflussung cholinergischer Wirkungen.

Eine periphere anticholinergische Wirkungskomponente der Lokalanästhetika gegen die „Muskarinwirkungen" des Azetylcholins ist an verschiedenen Untersuchungsobjekten nachgewiesen worden. In den Versuchen von DE ELIO[6] vermochte Novocain die durch Azetylcholin hervorgerufene Hemmung des Herzohrs antagonistisch zu beeinflussen, während Pantocain die Hemmung verstärkte; ähnliche Befunde erhoben FROMMEL, FAVRE und VALETTE[9] am Meerschweinchenherzen. In den Versuchen von SHEN und SIMON[33] war die Wirkung einer faradischen Reizung des peripheren Vagusstumpfes auf die Herzfrequenz nach Novocain stark herabgesetzt. Am durchströmten Kaninchenohr wurde die cholinerge Vasodilatation durch Novocain und Pantocain in den Versuchen von DE ELIO[6] annähernd gleichstark abgeschwächt. An isolierten Därmen konnte erstmalig SCHNELLER[32] eine antagonistische Wirkung des Novocains gegen den durch Cholin oder Physostigmin hervorgerufenen Spasmus zeigen. Nach FELDBERG und LIN[7] vermag Novocain schon in Konzentrationen von 1 : 600000 die Azetylcholinkontraktion des isolierten Meerschweinchendarmes abzuschwächen.

Die Nikotinwirkungen auf die Herzfrequenz, den Blutdruck und die Darmtätigkeit konnten in den Versuchen von HAZARD[12] durch hohe Novocaindosierungen (50 mg/kg) vorübergehend völlig paralysiert werden. HAZARD schließt hieraus auf einen Angriffspunkt des Novocains an den vegetativen Ganglien, läßt aber die Möglichkeit einer gleichzeitigen peripheren Beeinflussung der Nikotinwirkung offen.

Wir haben zur Vervollständigung dieser Ergebnisse die Beeinflussung der Wirkungen von Azetylcholin und von Lentin (Doryl) durch Novocain am Blutdruck und am Darm geprüft. Die depressorische Wirkung von Azetylcholineinzelinjektionen wurde durch 20 mg/kg Novocain mäßig, aber nicht signifikant abgeschwächt. *Während einer Dauerinfusion von Azetylcholin bei vagotomierten Hunden wirkte Novocain* in Dosierungen über 5 mg/kg stets *mäßig blutdrucksteigernd* (s. Abb. 9). Die Dauer dieser Blutdrucksteigerung war wechselnd, bei Einhaltung einer Novocaindosis von 10 mg/kg schwankte sie zwischen 2 und 15 min. — Während der durch Lentin (20 γ/kg intramuskulär) hervorgerufenen Blutdrucksenkung wurden prinzipiell gleichartige Ergebnisse erhalten. *Der durch Lentin hervorgerufene Darmspasmus wurde durch 10 mg/kg Novocain* unter Wiederherstellung der Bewegungen weitgehend *gelöst* (s. Abb. 4).

Das Kombinationspräparat Melcain bewirkte im Gegensatz zu Novocain während einer Azetylcholin-Dauerinfusion stets zusätzliche Blutdrucksenkungen, hier überwiegt also der im Honig enthaltene cholinergische Faktor die anticholinergische Wirkungskomponente des Novocains.

Pantocain (1—2 mg/kg) zeitigte in den gleichen Versuchsanordnungen wechselnde und schwer beurteilungsfähige Wirkungen. Die durch Azetylcholin hervorgerufene Blutdrucksenkung konnte unverändert bleiben, abgeschwächt oder auch verstärkt werden, ohne daß es bislang gelungen wäre, eindeutige Gesetzmäßigkeiten festzustellen. Gegen den durch 20 γ/kg Lentin i.m. hervorgerufenen Darmspasmus waren 2 mg/kg Pantocain unsicher wirksam.

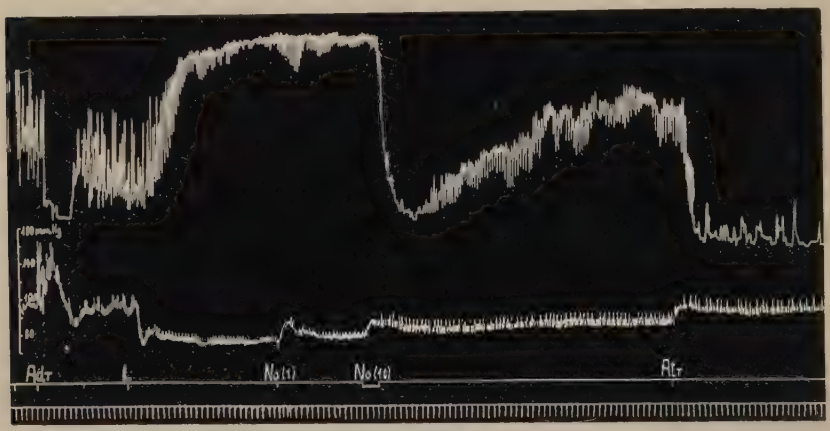


Abb. 4. *Antagonismus von Novocain gegen eine durch Lentin hervorgerufene cholinergische Erregung.* Hund (8 kg) in Morphin-Pernocton-Narkose. Obere Kurve: Darmbewegungen mit einem Wassermanometer als Volumenschreiber (Methodik nach Straub). Untere Kurve: Blutdruck mit einem Hg-Manometer aus der Art. Carotis. — Zeit in 15 sec. — *Adr.* = 40 γ Adrenalin i.v.; *L* = 100 γ Lentin i.m.; *No (1)* = 8 mg Novocain i.v.; *No (10)* = 80 mg Novocain i.v.; *Atr.* = 0,8 mg Atropin. sulfuric. i.v.

An isolierten Därmen verschiedener Tierarten konnten die Ergebnisse von Schneller[32] sowie Feldberg und Lin[7] eindeutig bestätigt werden. Zur vollständigen Lösung des durch Lentin (10^{-7}) hervorgerufenen Spasmus waren Novocainkonzentrationen von $2—4 \times 10^{-5}$ erforderlich. Pantocain zeigte sich in der Versuchsanordnung nach Junkmann[16] 1½mal wirksamer als Novocain.

Die blutdrucksteigernde Wirkung hoher Azetylcholindosierungen (0,3—0,5 mg/kg) wurde an atropinisierten Hunden in Chloralose-Narkose durch 10—20 mg/kg Novocain und 1—2 mg/kg Pantocain nicht signifikant verändert. Zu einer sicheren und weitgehenden Abschwächung der Nikotinwirkungen von Azetylcholin waren wie in den Versuchen von Hazard[12] mindestens 50 mg/kg Novocain oder 5 mg/kg Pantocain erforderlich. — An dekapitierten Hunden war eine signifikante Abschwächung der Nikotinwirkungen von Azetylcholin bereits mit geringeren Dosierungen zu erzielen, als am Hund mit intaktem Zentral-

nervensystem, hier vermochten bereits 10—20 mg/kg Novocain und 1—2 mg/kg Pantocain regelmäßig die auf Azetylcholin erfolgende Blutdrucksteigerung für 1—5 min zu vermindern. Pantocain war dabei etwas stärker wirksam als Novocain. Kokain (0,25—1 mg/kg) wirkte im Gegensatz zu Novocain und Pantocain regelmäßig verstärkend auf die durch Azetylcholin induzierte Blutdrucksteigerung.

Besprechung.

Aus den Ergebnissen über die Beeinflussung der Wirkung von Azetylcholin-Dauerinfusionen und intramuskulären Lentingaben durch Novocain geht eindeutig hervor, daß *Novocain* in Dosierungen über 5 mg/kg *die Wirkung des Azetylcholins und Lentins auf die Effektorzellen dämpft.* Dabei ist es prinzipiell gleichgültig, ob die Wirkung des Azetylcholins bzw. Lentins an dem geprüften Organsystem als Hemmung (an den Gefäßen) oder Erregung (am Darm) in Erscheinung tritt.

In der gleichen Richtung liegt die bereits bei der Besprechung der Eigenwirkungen des Novocains mitgeteilte Tatsache, daß Novocain besonders während einer durch Morphin oder Polamidon hervorgerufenen zentralen Vaguserregung herzschlagbeschleunigend und blutdrucksteigernd wirkt. Dies kann nicht nur auf eine Herabsetzung des reflektorischen Vagustonus mit Angriffspunkt an den sensiblen Endigungen zurückgeführt werden, da Pantocaindosierungen von 1—2 mg/kg, die einen viel stärkeren Einfluß auf die sensiblen Endigungen haben, die Herzfrequenz in geringerem Maße steigern, als 5—10 mg/kg Novocain.

Es erscheint aber schwierig, die anticholinergische Wirkungskomponente des Novocains, die nur mit hohen Dosen zu erhalten und auch dann noch, verglichen mit der Wirkung von Atropin, sehr geringfügig und flüchtig ist, zur Erklärung therapeutischer Erfolge, z. B. bei schmerzhafter „Kolik" oder dem Asthma bronchiale heranzuziehen. Wir glauben, dieser Wirkungskomponente des Novocains nicht mehr als eine höchstens unterstützende Rolle zuweisen zu dürfen.

Wichtig erscheint ferner die Tatsache, daß wir *in keinem Falle eine Verstärkung der Azetylcholinwirkung durch Novocain*, die auf Grund der von Ammon[1] festgestellten Hemmung der Cholinesterase vielleicht zu erwarten gewesen wäre, beobachten konnten.

Auch die von Adler und Üri[2] festgestellte Darmerregung konnten wir nur an zwei nicht funktionsfähigen tonuslosen Präparaten reproduzieren. Vielleicht beruht dieses auch klinisch beobachtete Phänomen auf einer Abschwächung der durch die Laparotomie gesetzten Hemmungsreflexe durch die zentral analgetische und lokalanästhetische Wirkungskomponente des Novocains.

Die Ergebnisse über die Beeinflussung cholinergischer Wirkungen durch Pantocain sind nur an isolierten Präparaten eindeutig. An isolierten Därmen ist Pantocain etwa 1½mal stärker anticholinergisch

wirksam als Novocain, an Blutgefäßen nach den Ergebnissen von de Elio[6] annähernd ebenso wirksam; am Herzen vermag Pantocain die cholinergische Hemmung nur zu verstärken, aber nicht abzuschwächen. Es ist demnach klar, daß mit den von uns verwandten Dosierungen von 1—2 mg/kg intravenös am ganzen Tier keine sicheren anticholinergischen Effekte zu erwarten waren. Die Verwendung höherer Dosierungen lag nicht im Interesse unserer Fragestellung. Hervorzuheben ist die Tatsache, daß 2 mg/kg Pantocain, die, getestet am Bezold-Jarisch-Reflex (s. u.), sicherer wirksam sind, als 20 mg/kg Novocain, viel geringere periphere Wirkungen auf die Effektorzellen haben; demnach zeigt das *Pantocain* gegenüber dem Novocain also eine *größere Wirkungsspezifität als Lokalanästhetikum.*

Die Versuche über die Beeinflussung der Nikotinwirkungen von Azetylcholin durch Novocain und Pantocain, die mit den hier hauptsächlich verwandten Dosierungen nur bei dekapitierten Tieren zu eindeutigen Ergebnissen geführt haben, zeigen, daß die *ganglionäre Blockadewirkung des Novocains* viel zu *schwach* und vorübergehend ist, um zur Erklärung der mit intravenösen Injektionen erzielten therapeutischen Erfolge herangezogen werden zu können.

Theoretisch wichtig erscheint die Tatsache, daß Pantocain in einer Dosis von 1 mg/kg gegen die Nikotinwirkung des Azetylcholins mindestens ebenso stark wirksam ist, wie 10 mg/kg Novocain; es gilt also das gleiche Wirkungsverhältnis wie bei der Leitungsanästhesie und am Bezold-Jarisch-Reflex. Im Hinblick auf die viel besprochene und hier nachgeprüfte „Adrenalinsensibilisierung" durch Novocain und Pantocain ist es interessant, daß Novocain und Pantocain die Nikotinwirkung von Azetylcholin auf den Blutdruck nur abzuschwächen, aber nicht zu verstärken vermochten. Bei einem echten peripheren „Adrenalinsensibilisator" wie dem Kokain wird die — auch für Kokain sichergestellte — Hemmung der ganglionären Erregung stets durch die Sensibilisierung der Effektorzellen für Adrenalin überkompensiert, so daß als Endeffekt trotz ganglionärer Hemmung eine verstärkte Blutdrucksteigerung resultiert.

4. Die Beeinflussung der Veratrinwirkung.

Die Versuche von Fleckenstein und Mitarbeitern[8] haben erstmalig überzeugend bewiesen, daß Lokalanästhetika bei i.v. Injektion in der Lage sind, eine reflektorische Blutdrucksenkung durch Veratrin oder Ca-entionisierende Stoffe aufzuheben. Zur Übertragung dieser Ergebnisse auf den Hund müssen einige Besonderheiten des Veratrineffektes bei dieser Tierart, über die an anderer Stelle eingehend berichtet werden wird, berücksichtigt werden. Der *Hund ist gegenüber Veratrin viel empfindlicher als die Katze*; von unserem Präparat (Veratrinum sulfuricum Merck) vermochten schon 5 γ/kg eine 1—5 min anhaltende Bradykardie und mäßige Blutdrucksenkung auszulösen. *Vagusblockade oder Vagotomie vermag die Blutdrucksenkung nur dann zu verhindern, wenn mit Schwellendosen gearbeitet wird.* Bei Verwendung höherer Veratrindosen (15—100 γ/kg) vermag die Kälteblockade oder Durchschneidung der Vagi die Blutdrucksenkung allenfalls abzuschwächen, aber nicht zu verhindern; diese, von McNider[25] und Krayer[19] festgestellte Tatsache können wir bestätigen.

In unseren eigenen Versuchen bewirkte Veratrin selbst nach Vagotomie und Ausschaltung beider Karotis-Sinus-Gebiete bei 14 von 20 Versuchstieren noch eine Blutdrucksenkung und starke Gefäßerweiterung in der innervierten Extremität (s. Abb. 5). Diese *Blutdrucksenkung* ist *auch bei dekapitierten Tieren* zu erhalten und wird besonders deutlich, wenn durch eine Arterenol- oder Adrenalin-Dauerinfusion ein annähernd normaler Ausgangsblutdruck eingestellt wird. Die blutdruck-

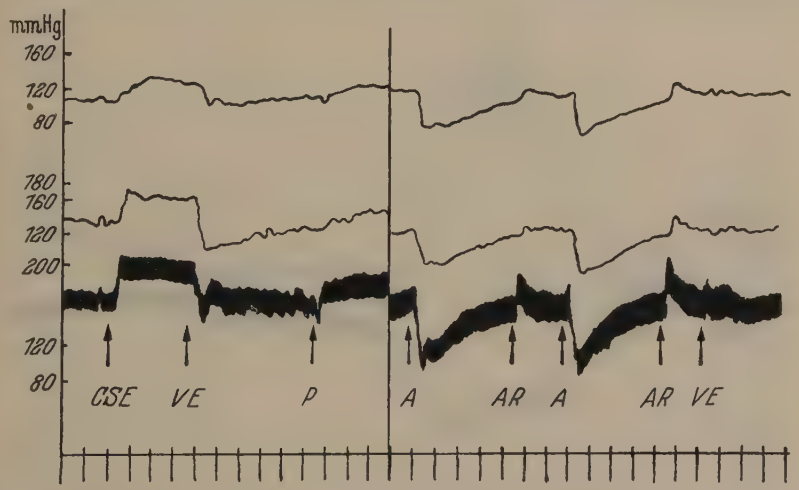


Abb. 5. *Aufhebung und Verhinderung der reflektorischen Blutdrucksenkung nach Veratrin durch Pantocain, Einflußlosigkeit des Pantocains auf die periphere adrenerge Vasodilatation.* — Hund (12 kg) in Chloralose-Urethan-Narkose; Nolf-Präparat. — Beide Vagi durchschnitten, künstliche Atmung. — Oberste Kurve: Rückläufiger Blutdruck im entnervten Bein; mittlere Kurve: Rückläufiger Blutdruck im innervierten Bein; untere Kurve: Karotis-Blutdruck. — Zeit in 15 sec. — *C.S.E.* = Abbinden der freien Art. Carotis communis; *V* = 120 γ Veratrin; *P* = 24 mg Pantocain; *ADR* = 60 γ l-Adrenalin; *Art* = 60 γ l-Arterenol. — Zwischen dem 1. und 2. Teil der Kurve sind 25 min herausgeschnitten; inzwischen noch 2mal 24 mg Pantocain und 12 mg Yohimbin hydrochloric.

senkende Wirkung des Veratrins wird beim Hunde erst durch Rückenmarkszerstörung völlig ausgeschaltet. Es ist demnach sicher, daß der *Veratrineffekt beim Hund* auch in anderen Bahnen als den Vagi afferent geleitet und *auch in tieferen, im Rückenmark gelegenen Zentren auf efferente Vasodilatatoren umgeschaltet werden kann.* — Die blutdrucksteigernde Wirkungskomponente des Veratrins kommt beim Hunde nur nach Vorbehandlung mit lokalanästhetisch wirksamen Substanzen oder bei sehr großen oder häufig wiederholten Gaben rein und sicher zum Durchbruch. In einigen Fällen kann bei vagotomierten Hunden eine kurze Blutdrucksteigerung als Erst- oder Zwischenreaktion beobachtet werden.

Eine weitere Besonderheit der Veratrinwirkung beim Hund kann in der starken *Darmwirkung* gesehen werden. Dosierungen über 50 γ/kg

führen mit Sicherheit zu starker Tonussteigerung und vermehrter Peristaltik (s. Abb. 6). Diese Wirkung wird durch Vagotomie nicht und durch Atropin (0,1 mg/kg) nur mäßig abgeschwächt.

In unseren Versuchen über die Beeinflussung der Veratrinwirkung durch die Lokalanästhetika konnten die Ergebnisse von Fleckenstein[33] qualitativ und quantitativ bestätigt werden. An intakten Hunden in Chloralose-Narkose konnte der Bezold-Jarisch-Reflex nach 50 γ/kg Veratrin durch 2 mg/kg Pantocain sicher und durch 20 mg/kg Novocain in 3 von 5 Versuchen verhindert werden.

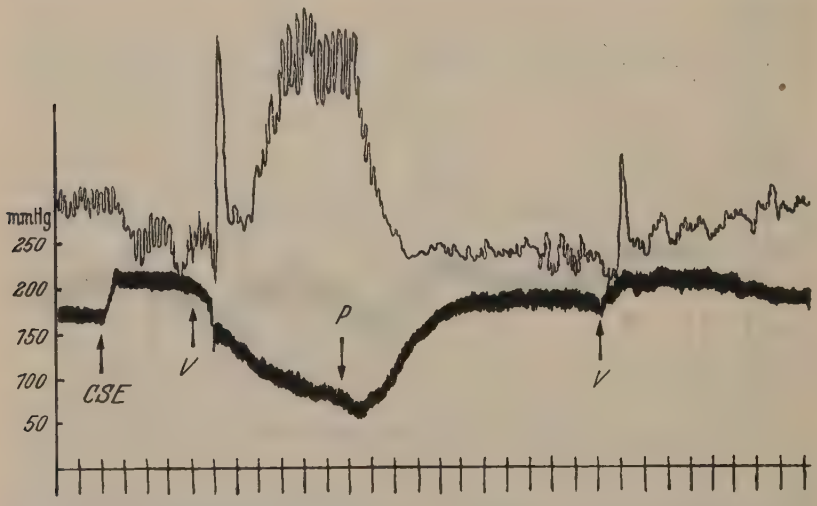


Abb. 6. *Antagonismus des Pantocains gegen die blutdrucksenkende und darmerregende Wirkung des Veratrins.* Hund (12 kg) in Chloralose-Narkose, beide Vagi durchschnitten, künstliche Atmung. Obere Kurve: Darmbewegungen mit einem Wassermanometer als Volumenschreiber (Methode nach Straub); — untere Kurve: Blutdruck mit einem Hg-Manometer aus der Art. Carotis. — Zeit in 15 sec. — *C.S.E.* = Abbinden der freien Art. Carotis communis; *V* = 1,2 mg Veratrin sulfuric.; *P* = 30 mg Pantocain.

In früher durchgeführten Versuchen hatte sich Novocain (20 mg/kg) gegen den Bezold-Jarisch-Reflex durch 100 γ/kg Veratrin wenig wirksam gezeigt, während Pantocain (2 mg/kg) wirksam war. Wir haben deshalb versucht, ob es bei Verringerung der Veratrindosis möglich sei auch die „*Schutzdosis*" des Lokalanästhetikums zu verringern. Dies ist uns weitgehend gelungen. Gegen den Effekt von 20 γ/kg Veratrin waren 10 mg/kg Novocain in 4 von 5 Versuchen sicher ausreichend. Der *Effekt einer Schwellendosis von Veratrin* (5 γ/kg) wurde bereits *durch 2 mg/kg Novocain sicher verhindert*, wenn der Abstand zwischen den beiden Injektionen nicht mehr als 30 sec betrug. Eine Abschwächung der Wirkung von 5 γ/kg Veratrin konnte bis zu 17 min beobachtet werden.

An vagotomierten Hunden sowie an Hunden mit zusätzlich ausgeschaltetem Karotis-Sinus und an dekapitierten Präparaten wurden

grundsätzlich gleichartige Ergebnisse erhalten. Die „Schutzwirkung" der Lokalanästhetika war hier sogar sicherer, als bei intakten Tieren.

Die bereits eingetretene Wirkung von Veratrin konnte durch die Lokalanästhetika sowohl an intakten Hunden wie auch nach Vagotomie und Ausschaltung der Karotis-Sinus sicher aufgehoben werden; dabei wurden annähernd dieselben Dosierungen benötigt, wie für die „Schutzwirkung". Gegen hohe Veratrindosierungen (100 γ/kg) war Novocain (20 mg/kg) auch hier unsicher wirksam und führte unter Umständen zu zusätzlicher Blutdrucksenkung, während Pantocain (2 mg/kg) sicher wirksam war (s. Abb. 5 u. 6).

An den dekapitierten Hunden bewirkten Pantocain und Novocain nach 100 γ/kg Veratrin eine zusätzliche Blutdrucksenkung, wenn der diesen Präparaten fehlende Vasomotorentonus nicht durch eine Dauerinfusion von Adrenalin oder Arterenol ersetzt wurde. Wenn aber sowohl das Veratrin wie auch das Lokalanästhetikum während einer derartigen Dauerinfusion injiziert wurden, so vermochten 1—2 mg/kg Pantocain in allen Fällen den Ausgangsblutdruck annähernd wiederherzustellen. Novocain führte bei einer Dosis von 20 mg/kg zu zusätzlichen Blutdrucksenkungen, während eine Dosis von 10 mg/kg in 3 von 5 Versuchen zu mäßigen Blutdrucksteigerungen führte.

Bei den Versuchen zur Beeinflussung der Blutdruckwirkung des Veratrins hatte sich das stets reproduzierbare Phänomen eines *wechselseitigen Antagonismus zwischen Veratrin und den Lokalanästhetika* gezeigt. Unter Bedingungen, wo die Lokalanästhetika sonst rein blutdrucksenkend wirkten, z. B. an vagotomierten Tieren mit ausgeschaltetem Karotis-Sinus und an dekapitierten Präparaten während einer Dauerinfusion von Arterenol oder Adrenalin, konnte mit Veratrin eine Lage hergestellt werden, in der die Lokalanästhetika, — besonders eindeutig Pantocain, — blutdrucksteigernd wirkten. Andererseits war es durch Vorbehandlung mit Lokalanästhetika möglich, die blutdrucksenkende Wirkungskomponente des Veratrins, die mit Sicherheit auf einer Erregung depressorischer Kreislaufnerven beruht, völlig auszuschalten und die blutdrucksteigernde Wirkungskomponente zur Darstellung zu bringen.

Nach der artefiziellen Erregung der sonst am dekapitierten Tier scheinbar unerregbaren depressorischen Kreislaufnerven durch Veratrin hatten die Lokalanästhetika, die sonst am dekapitierten Hund während einer Dauerinfusion von Arterenol oder adrenalinantagonistisch wirkten, adrenalinsynergistisch gewirkt. Es lag deshalb nahe, zu versuchen, ob nach Veratringaben am dekapitierten Hund durch Lokalanästhetika auch eine Wirkungsverstärkung der Einzelinjektionen von Arterenol und Adrenalin zu erzielen war. — Dies ist uns in 4 von 5 Versuchen gelungen. Nach Veratrin, das die übliche Blutdrucksenkung hervorrief,

war das Flächenintegral der auf Arterenol oder Adrenalin erfolgenden Blutdrucksteigerung nur mäßig abgeschwächt; die Gipfelhöhe war aber mindestens um den Betrag der durch das Veratrin hervorgerufenen Blutdrucksenkung vermindert. Durch zusätzliche Gabe von 1—2 mg/kg Pantocain oder 10—20 mg/kg Novocain, die am dekapitierten Hund für sich allein keine Blutdrucksteigerung verursachten, konnte die alte Gipfelhöhe der Arterenol- bzw. Adrenalinwirkung auf den Blutdruck wiederhergestellt und damit das Flächenintegral der Blutdrucksteigerung erheblich vergrößert werden.

Besprechung.

Die Ergebnisse über die Beeinflussung der Veratrinwirkung scheinen am ehesten eine Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetika bei intravenöser Injektion zu ermöglichen. Die grundsätzlichen Ergebnisse von Fleckenstein und Mitarbeitern konnten beim Hund, bei dem die Veratrinwirkung nicht im Sinne des „einfachen" Bezold-Jarisch-Reflexes verläuft, qualitativ und quantitativ bestätigt werden. Wichtig erscheint an unseren Versuchen, daß eine direkte Abhängigkeit zwischen der zur Auslösung des Bezold-Jarisch-Reflexes verwandten Veratrindosis und der zur Verhinderung bzw. Aufhebung der Veratrinwirkung notwendigen Dosis der Lokalanästhetika besteht.

Die depressorische und herzschlagverlangsamende Wirkung der Schwellendosen von Veratrin wird bereits durch Novocaindosierungen, die im therapeutischen Bereich liegen, ausgelöscht oder aufgehoben. Demnach ist es wahrscheinlich nicht verfehlt, *für manche mit Novocain erzielten therapeutischen Erfolge eine Unterbrechung oder Dämpfung pathologisch übersteigerter Reflexe am Ursprungsort, den Endigungen der afferenten Fasern des autonomen Systems, anzunehmen.* Diese Wirkung würde in der Therapie mit der von Eichholtz[4] erwiesenen zentralanalgetischen Wirkung kleiner Novocaindosierungen korrespondieren.

Theoretisch wichtig erscheint die Tatsache, daß Pantocain in Dosierungen, die ohne wesentlichen Einfluß auf periphere cholinergische Effekte sind, alle „parasympathikomimetischen" Wirkungen des Veratrins auf autonome Erfolgsorgane aufhebt oder verhindert. Die Spezifität dieses Antagonismus ist, wenn man einmal von dem Faktor der geringeren Wirkungsdauer des Pantocains absieht, nur mit dem Antagonismus von Atropin und Azetylcholin zu vergleichen.

Weiterhin zeigt sich im Veratrinversuch eine absolute *Abhängigkeit der Kreislaufwirkung intravenös injizierter Lokalanästhetika von der Ausgangserregungslage der depressorischen Kreislaufnerven.* Nach Ausschaltung aller physiologisch bedeutsamen sensiblen depressorischen Kreis-

laufnerven durch Vagotomie und Abklemmen der Karotiden, tiefe Narkose oder Dekapitation wirkten die Lokalanästhetika rein blutdrucksenkend. Nach künstlicher Erregung der depressorischen Kreislaufnerven durch Veratrin wirkten die Lokalanästhetika vorwiegend blutdrucksteigernd. Eine gelegentliche Ausnahme machen lediglich die gegen hohe Veratrindosierungen erforderlichen hohen Novocaindosierungen; diese Tatsache wird man zwanglos mit der bei diesen Dosierungen bereits konkurrierend in Erscheinung tretenden Lähmung der Effektorzellen erklären können.

Außerdem gibt der Veratrinversuch einen einwandfreien *Beweis* für die bereits bei der Besprechung der Beeinflussung adrenergischer Wirkungen durch Novocain und Pantocain geäußerte Annahme, *daß der Adrenalin-Synergismus dieser Lokalanästhetika nur auf einer Erregbarkeitsherabsetzung der gegenregulatorisch wirksamen depressorischen Kreislaufnerven beruhen kann.* Am dekapitierten Hund, unter Bedingungen, wo die Lokalanästhetika üblicherweise vorwiegend als periphere Adrenalinantagonisten wirksam werden, wirken sie als Adrenalinsynergisten, wenn die gegenregulatorisch wirksamen depressorischen Kreislaufnerven durch Veratrin künstlich in Erregung gesetzt werden.

Die Berechtigung der Auffassung von Fleckenstein: „Man wird künftig, wenn es sich darum handelt, zu untersuchen, ob eine Blutdrucksenkung oder ein Anteil einer Blutdrucksenkung reflektorischer Natur ist, die Beeinflussung durch Lokalanästhetika zu prüfen haben", konnte vollauf bestätigt werden. Nach unseren Untersuchungen müßte hierfür vorwiegend das *Pantocain*, das bei einer Dosierung von 2 mg/kg spezifisch wirksam ist und *keine* besonders störenden *konkurrierenden peripheren Effekte* aufweist, herangezogen werden.

5. Die Beeinflussung der Karotis-Sinus-Entlastung.

Nach Vercauteren[38] und Heymans[15] sind Novocain, Tutocain und Kokain in der Lage, die vom Karotis-Sinus ausgehenden Kreislaufreflexe abzuschwächen oder aufzuheben. Wir haben diese Befunde unter Einbeziehung des Pantocains nachgeprüft. Die Beeinflussung der Karotis-Sinus-Entlastung durch Novocain und Pantocain wurde in unseren Versuchen stets am vagotomierten Hund in Chloralose-Narkose geprüft. Da die Blutdruckregistrierung aus der Art. Carotis erfolgte, brauchte zur Entlastung nur eine Art. Carotis abgeklemmt werden.

Die pressorische Wirkung der Karotidenabklemmung wurde bei 8 von 10 Hunden durch 10—20 mg/kg Novocain vorübergehend abgeschwächt, 1—2 mg/kg Pantocain waren bei diesen Hunden erheblich stärker wirksam und führten bei 2 Versuchstieren vorübergehend zu einer fast völligen Auslöschung des Effektes der Karotidenabklemmung. Bei einem Hunde waren 20 mg/kg Novocain und 2 mg/kg Pantocain ohne deutlichen Einfluß. Bei einem weiteren Hunde trat eine paradoxe

Reaktion auf: Nach 2 mg/kg Pantocain war die auf Karotidenabklemmung erfolgende Blutdrucksteigerung verstärkt.

Die Versuche bestätigen die Ergebnisse von Vercauteren[38] und Heymans[15] und zeigen, daß Novocain und Pantocain bei intravenöser Injektion grundsätzlich in der Lage sind, die Erregbarkeit der sensiblen Rezeptorenfelder im Karotis-Sinus abzuschwächen, so daß eine hinterher vorgenommene Ausschaltung durch Abklemmen der Art. Carotis Communis einen verringerten Effekt zeigt. Wir glauben hiernach, wie auch nach den Ergebnissen der Veratrinversuche annehmen zu dürfen, daß die *Lokalanästhetika bei intravenöser Injektion* grundsätzlich *eine Dämpfung der Afferenzen des autonomen Systems* bewirken. Hierdurch kommt es zu einer Abschwächung der tonisch-reflektorischen Erregung der parasympathischen und der tonisch-reflektorischen Hemmung sympathischer Zentren. Die häufig berichteten und auch in unseren Versuchen eingetretenen „sympathikomimetischen" Wirkungen des Novocains und Pantocains müssen demnach in erster Linie auf die Dämpfung von Afferenzen zurückgeführt werden.

Beim Pantocain führt die Erregbarkeitsdämpfung der pressorezeptorischen Felder unter Umständen zu einer ausgeprägten Blutdrucksteigerung, während diese beim Novocain meist vermißt wird. Dieser Unterschied erklärt sich zwanglos aus der in allen Versuchsanordnungen sicher festgestellten Tatsache, daß Novocain in den Dosierungen, die in bezug auf den lokalanästhetischen Effekt äquivalent mit Pantocain sind, viel stärkere Wirkungen auf glattmuskuläre Effektorzellen zeigt.

Die Tatsache, daß der blutdrucksteigernde Effekt einer die pressorezeptorischen Endigungen weitgehend lähmenden Pantocaindosis hinter dem Effekt einer Karotidenabklemmung zurückbleibt, ist mit der am atropinisierten Hund nachgewiesenen Erregbarkeitsdämpfung der peripheren sympathischen Ganglien leicht zu erklären.

Zusammenfassung.

Es wird über Versuche an 173 Hunden, 4 Katzen und an isolierten Därmen zur Klärung des Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetika bei intravenöser Injektion berichtet. Untersucht wurde die Beeinflussung der Wirkungen von Überträgerstoffen und des Veratrins durch Novocain und Pantocain. Die Untersuchung zeitigte folgende Ergebnisse:

1. An den Effektorzellen der glatten Muskulatur der Blutgefäße und des Darmes wirkt Novocain sowohl anticholinergisch wie antiadrenergisch. Dabei ist es gleichgültig, ob die Wirkung des Überträgerstoffes an dem geprüften Organsystem als Erregung oder als Hemmung in Erscheinung tritt. Pantocain zeigt in Dosierungen, die, getestet an der

anästhetischen Wirkung und am Veratrineffekt, stärker wirksam sind als Novocain, nur schwache Wirkungen auf die Effektorzellen.

2. Die Erregbarkeit der sympathischen Ganglien durch intravenös injiziertes Azetylcholin wird durch Novocain und Pantocain abgeschwächt. Das Wirkungsverhältnis entspricht hierbei annähernd dem Wirkungsverhältnis in der Leitungsanästhesie und am Bezold-Jarisch-Reflex, eine Aufhebung der Erregbarkeit ist jedoch erst mit extremen Dosen zu erzielen.

3. Die Erregbarkeit der veratrinempfindlichen depressorischen Kreislaufnerven wird durch Pantocain und Novocain mit Sicherheit vorübergehend stark herabgesetzt; eine bestehende Erregung wird aufgehoben. — Pantocain ist gegen hohe Veratrindosierungen erheblich sicherer wirksam als Novocain. Die Wirksamkeit des Novocains läßt sich nur bei Verwendung kleiner Veratrindosen einwandfrei demonstrieren, hierbei sind jedoch schon therapeutische Dosen wirksam.

4. Die Erregbarkeit der pressorezeptorischen Endigungen im Karotis-Sinus wird durch Novocain und Pantocain herabgesetzt; Pantocain vermag dabei bis zu einem gewissen Grade den Effekt einer Karotis-Sinus-Entlastung nachzuahmen.

5. Die am ganzen Tier eintretende „Sensibilisierung" der pressorischen Wirkung von Adrenalin und Arterenol durch Novocain und Pantocain beruht auf einer Dämpfung der Gegenregulation.

6. Aus den Versuchsergebnissen wird geschlossen, daß eine Dämpfung der Afferenzen des autonomen Systems am therapeutischen Effekt des intravenös injizierten Novocains beteiligt sein kann.

Literatur.

[1] Ammon, R., u. K. Zipf: Klin. Wschr. **1941**, 1176. — [2] Adler, P., u. I. Üri: Klin. Wschr. **1950**, 99. — [3] Becker, E. R.: Dissertation. Hannover 1950. — [4] Eichholtz, F.: Klin. Wschr. **1950**, 761. — [5] Elio, F. I. de: J. of Pharmacol. **3**, 108 (1948). — [7] Feldberg, W., u. R. C. Y. Lin: J. of Pharmacol. **1949**, 33. — [8] Fleckenstein, A., R. Muschaweck u. F. Bohlinger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 132 (1950). — [9] Frommel, E., M. Favre u. I. Valette: Arch. internat. Pharmacodynamie **76**, 341 (1948). — [10] Hatcher, R. A., u. C. Eggleston: J. of Pharmacol. **8**, 385 (1916). — [11] Hauschild, F., u. Ph. Landbeck: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 303 (1948). — [12] Hazard, R.: C. r. Soc. Biol. Paris **136**, 458 (1947). — [13] Heim, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 181 (1950). — [14] Heim, F., u. G. Kolle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 303 (1950). — [15] Heymans, C.: Le Sinus Carotidien et la Zone homologue Cardio-aortique. Paris 1933. — [16] Junkmann, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **186**, 552 (1937). — [17] Koch, E.: Med. Wschr. **1949**, 345. — [18] Krause, D.: Habil.-Schr. Hannover 1950. — [19] Krayer, O., u. G. H. Acheson: Physiologic Rev. **26**, 383 (1946). — [20] Laubender, W.: Heffters Handb., Erg.-W. 8, 1 (1939). — [21] Lillo, A.: Diss. Hannover 1950. — [22] Malorny, G., u. G. Orzechowski:

Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 260 (1940). — [23] Mancke, R., u. G. Orzechowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 311 (1948). — [24] McGregor, D. F.: J. of Pharmacol. **60**, 355 (1939). — [25] McNider: South Med. a. Surg. **87**, 637 (1925); zit. n. Krayer[19]. — [26] Ölkers, H. A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 493 (1940). — [27] Raymond-Hamet: C. r. Soc. Biol. Paris **112**, 452 (1933). — [28] Rohkrämer, Z.: Ges. Inn. Med. **3**, 532 (1948). — [29] Schaumann, O., u. F. Fussgänger: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **138**, 208 (1928). — [30] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **190**, 30 (1938). — [31] Schaumann, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 305 (1941). — [32] Schneller, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **108**, 78 (1925). — [33] Shen, T. C. R., u. R. Simon: Arch. internat. Pharmacodynamie **59**, 68 (1938). — [34] Söhring, K.: Pharmazie **4**, 319 (1949). — [35] Steidle, H., u. O. Wiemann: Z. exper. Med. **40**, 369 (1924). — [36] Straub, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 1 (1933). — [37] Taubmann, G., u. G. Jung: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **156**, 18 (1930). — [38] Vercauteren, E.: C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 563 (1932). — [39] Witte, A.: Diss. Hannover 1950.

Weiteres, in der Arbeit aus äußeren Gründen nicht beigebrachtes Belegmaterial kann vom Verfasser angefordert werden.

Dr. D. Krause, Hannover, Pharmakol. Institut der Tierärztlichen Hochschule.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 537—550 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Weitere Untersuchungen über die Inaktivierbarkeit des dehydrasenhemmenden Prinzips in Bienengift und Schlangengiften durch Hitze und antitoxische Sera.

Von
A. Fleckenstein und W. Schneiter*.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. April 1951.)

Bienengift[5, 6, 8, 11] und eine Reihe von Schlangengiften[8, 10, 11] sind nach unseren vorausgegangenen Untersuchungen weit stärker dehydrasenhemmend als die aktivsten dehydrasenhemmenden Schmerz- und Entzündungsgifte von bekannter chemischer Konstitution[5, 6, 7]. Die letzten Hemmungen des Zitronensäureabbaus in Froschmuskelbrei waren z. B. nach länger dauernder Inkubation von *Bienengift* noch in Verdünnung 1 : 50 Millionen nachweisbar[8]. Auch die Toxine von *Naja naja* (Kobra), *Sepedon haemachates* (afrikanische Speischlange), *Ammodytes ammodytes* (Sandviper), *Agkistrodon piscivorus* (amerikanische Wassermoccasinschlange), *Agkistrodon contortrix* (amerikanische Moccasinschlange, „Copperhead"), *Bothrops atrox* und *Causus rhombeatus* ließen noch in millionenfacher Verdünnung[8] Wirkungen erkennen. Als durchschnittlich etwas schwächer dehydrasenhemmend erwiesen sich die — meist noch in hunderttausendfacher Verdünnung aktiven — Gifte der *Klapperschlangen* (Gattung Crotalus). Schon im Rahmen dieser früheren Untersuchungen[8] ist von uns gefunden worden:

a) daß die in vitro dehydrasenhemmende Komponente des Bienengifts und Kobragifts offenbar eine ganz ähnliche Hitzeresistenz aufweist wie die toxischen Inhaltsstoffe des nativen Giftsekrets bei der Prüfung am ganzen Tier;

b) daß das dehydrasenhemmende Prinzip in Kobragift und Ammodytes-Gift Antigen-Charakter hat, d. h. ebenso wie die Giftwirkung am ganzen Tier durch antitoxisches Serum neutralisiert werden kann;

c) daß das dehydrasenhemmende Prinzip in Kobragift und Ammodytes-Gift die gleichen artspezifischen Unterschiede wie das native

* Ein Teil der Ergebnisse wurde unter Mitwirkung von Herrn Dr. med. A. Förderer gewonnen.

Giftsekret erkennen läßt, d. h. praktisch nur durch spezifisch antitoxisches Serum inaktiviert wird: Kobra-Serum ist daher gegen die Dehydrasenhemmung durch Ammodytes-Toxin, Ammodytes-Serum gegen die Dehydrasenhemmung durch Kobra-Toxin ohne stärkeren Effekt.

Die im folgenden wiedergegebenen Untersuchungen sollten nunmehr unter Verwendung weiterer Schlangengifte und antitoxischer Sera neue Anhaltspunkte für eine eventuelle Identität des dehydrasenhemmenden Prinzips mit der entscheidenden toxischen Komponente der nativen Gifte erbringen. Gleichzeitig wurde auch die Hitze-Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips einer weiteren Prüfung unterzogen.

Experimenteller Teil.

Methode.

Sämtliche Ergebnisse wurden mit unserer — bereits früher genau beschriebenen — Methode[8] an Muskelpräparaten aus Fröschen gewonnen. Die vergifteten Ansätze enthielten wieder

a) 1 g Muskelpräparat,

b) Gift-Stammlösung in Phosphatpuffer (1 Teil 0,2 mol prim. Natrium-Phosphat + 2 Teile 0,2 mol sek. Natrium-Phosphat),

c) reine Phosphatpuffer-Lösung ad 2,5 cm³.

Nach 3 Std dauernder Inkubation der Gifte bei 30° C wurde

d) 1 cm³ 0,2 mol Natriumcitrat in Phosphatpuffer als Substrat,

e) 1 cm³ Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (Konz. 1 : 200 in Phosphatpuffer) als Wasserstoffakzeptor nach Kuhn u. Mitarb.[12],

f) Phosphatpuffer ad 5,0 cm³ in die Röhrchen gegeben.

Sämtliche Konzentrationsangaben der Gifte (jeweils ausgehend vom Trockengift) sind auf diese 5 cm³ Flüssigkeitsinhalt der Ansätze bezogen.

Nach Absättigung mit Leuchtgas wurden die Röhrchen (meist für 1—2 Std) in ein Wasserbad von 30° C gebracht. Anschließend wurde das durch Hydrierung von Triphenyltetrazoliumchlorid gebildete rote Triphenylformazan in Methylalkohol ausgeschüttelt und photometrisch bestimmt. Unvergiftete Kontrollen mit und ohne Substrat wurden in gleicher Weise behandelt.

Bei der Prüfung der Thermoresistenz der Gifte wurde der Versuchsgang insofern geändert, als die Röhrchen zuerst mit 2,5 cm³ gifthaltiger Phosphatpuffer-Lösung (*b* + *c*) in einem Wasserbad jeweils 10 min erhitzt wurden und die Zugabe von 1 g Muskelpräparat (*a*) jeweils erst anschließend nach Abkühlung auf Zimmertemperatur erfolgte.

Bei der Prüfung der Gift-Inaktivierung durch antitoxische Sera wurde in die Röhrchen zuerst die berechnete Menge Gift-Stammlösung (*b*) + 0,5 cm³ des zu prüfenden Serums + Phosphatpuffer-Lösung (*c*) ad 2,5 cm³ gegeben. Erst nach 10 min Stehen dieser Mischung bei Zimmertemperatur kam dann in jedes Röhrchen 1 g Muskelpräparat (*a*). Gleichzeitig wurden vergiftete Kontrollen ohne Serum, unvergiftete Kontrollen mit und ohne Serum sowie jeweils auch mit und ohne Substrat angesetzt. Auch die Versuchsanordnung mit Serum war die gleiche wie früher schon beschrieben.

I. Die Hitze-Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips.

Es ist seit langem durch Toxizitäts-Prüfungen am ganzen Tier bekannt, daß Bienengift und Schlangengifte in ihrer Empfindlichkeit gegen Hitze charakteristische Besonderheiten zeigen. So soll Bienengift Temperaturen von 100° C über einige Zeit ertragen (LANGER[13]) und damit widerstandsfähiger als Schlangengifte sein. Die Gifte der Colubriden (Naja naja, Sepedon haemachates, Naja atra) sind zwar gegen Hitze relativ resistent, doch wirken Temperaturen über 80° C schädigend; bei 80—90° C wird z. B. das Gift von Naja atra zu etwa 50% inaktiviert und bei 95—100° C auf $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ seiner ursprünglichen Stärke reduziert (YAMA-

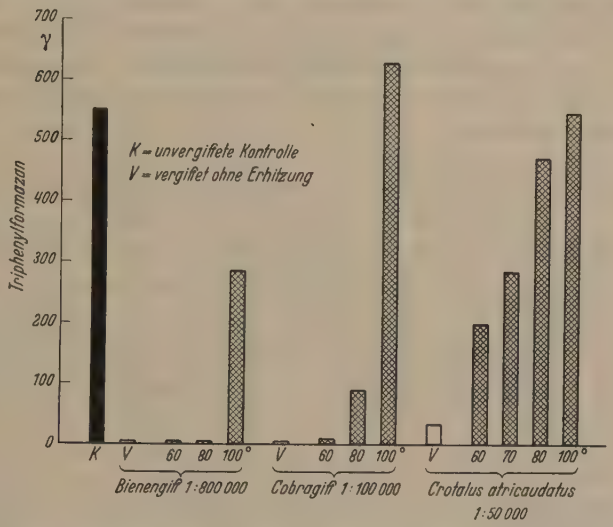


Abb. 1. *Vergleich der Inaktivierungs-Temperaturen bei Bienengift, Kobragift und Crotalus atricaudatus-Gift.* (Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat bei Zusatz von Natriumcitrat.)

GUTI[17]). Bedeutend empfindlicher gegen Hitze sind bekanntlich die Viperiden-Gifte: Nach DO AMARAL[3] verliert das Toxin von Bothrops atrox seine Aktivität bei 70° C, während CALMETTE[2] schon bei 65° C eine Zerstörung von Bothrops-Gift beobachten konnte. FAUST[4] faßt die Angaben der Literatur dahingehend zusammen, daß Viperiden-Gifte (Bothrops, Crotalus, Vipern) im allgemeinen durch 70° C in ihrer Wirkung abgeschwächt und durch 80—85° C völlig vernichtet werden. Auch das Gift von Agkistrodon piscivorus besitzt an der weißen Maus nach 30 min Erhitzung auf 80° C nur noch $^1/_{30}$—$^1/_{50}$ seiner ursprünglichen Stärke[14].

Unsere Untersuchungen haben nun ergeben, daß die hemmenden Wirkungen der einzelnen Gifte auf die Muskel-Dehydrasen (Zitronensäure-Dehydrierung) jeweils etwa im gleichen Temperaturbereich aufgehoben werden wie die Giftwirkungen für das ganze Tier. Dementsprechend besitzt das dehydrasenhemmende Prinzip des *Bienengifts* die höchste Hitze-Resistenz. Abb. 1 gibt als Beispiel Versuche wieder, in denen die gifthaltige Phosphatpufferlösung (Bienengift-Konz. 1 : 800000) vor Zugabe des Muskelbreis 10 min lang im Wasserbad auf 60° bzw. 80° bzw. 100° C erhitzt worden war. Erst bei 100° C wurde hier die Aktivität

der Giftlösung herabgesetzt. Eine Resistenz gegen längerdauerndes Kochen — im Sinne von Langer[13] — besteht also nicht, doch dürfte sich diese Diskrepanz zwanglos als Folge der größeren Genauigkeit erklären, mit der unsere Methode schon den Beginn der Inaktivierung wiedergibt.

Eine im Vergleich zu Bienengift deutlich größere Hitzeempfindlichkeit läßt das dehydrasenhemmende Prinzip in Kobragift erkennen: Nach 10 min Aufenthalt im Wasserbad von 100° C sind solche verdünnten Kobragift-Phosphatpuffer-Lösungen völlig inaktiviert; auch bei 80° C tritt schon eine gewisse Abschwächung ein. Temperaturen zwischen 60 und 70° C sind dagegen innerhalb 10 min praktisch wirkungslos. Gift von Sepedon haemachates stimmt in seinem Verhalten gegen Erhitzung mit Kobragift überein.

Tabelle 1. *Hitze-Inaktivierung des dehydrasenhemmenden Prinzips in Bienengift und Schlangengiften bei verschiedenen Temperaturen.*

(Abnahme der Giftwirkung auf die Zitronensäure-Dehydrase in Prozenten* nach 10 min Erhitzung.)

Gifte	60° C	70° C	80° C	100° C	Angewandte Gift-Konzentrationen**
Bienengift	0	0	0	52	1 : 800000
Naja naja	0	0	17	100	1 : 100000
Sepedon haemachates	0	0	0	100	1 : 200000
Bothrops atrox	0	50	50	—	1 : 100000
Crotalus viridis	9	22	47	—	1 : 50000
Ammodytes ammodytes	20	26	42	—	1 : 200000
Agkistrodon contortrix	9	35	53	—	1 : 400000
Crotalus atrox	15	34	73	—	1 : 20000
Crotalus atricaudatus	29	43	79	—	1 : 50000
Crotalus terrificus	20	92	100	—	1 : 20000
Crotalus adamanteus	60	90	100	—	1 : 20000
Crotalus basiliscus	73	88	100	—	1 : 20000

* 100% Giftwirkung (0% Toxizitätsabnahme) = Differenz zwischen der Triphenylformazan-Bildung in den unvergifteten Kontrollen und der Triphenylformazan-Bildung in den — mit nicht erhitztem Gift behandelten — Kontrollen.

** Die Konzentration der einzelnen Gifte wurde jeweils so gewählt, daß sie gerade zu einer weitgehenden bzw. fast kompletten Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung im Muskelbrei ausreichte. Da infolgedessen kein Gift im Überschuß vorhanden war, mußte sich jede Inaktivierung durch Erhitzung sofort in einer Abnahme der dehydrasenhemmenden Wirksamkeit äußern.

Die geringste Hitze-Resistenz hat das dehydrasenhemmende Prinzip in den Giften der Viperiden (vgl. Tab. 1). Hier genügt schon eine Temperatur von 80° C um innerhalb 10 min die dehydrasenhemmende Wirksamkeit der Gifte von *Crotalus adamanteus* (Diamant-Klapperschlange), *Crotalus terrificus, Crotalus basiliscus* jeweils in Konz. 1 : 20000 zu 100%

zu inaktivieren; auch 70° C und teilweise schon 60° C schwächt die Wirkungen dieser Gifte auf die Zitronensäure-Dehydrierung hochgradig ab. Die Toxine von *Ammodytes ammodytes, Crotalus atricaudatus, Crotalus atrox, Crotalus viridis* und *Agkistrodon contortrix* werden durch diese Temperaturen in ihrer Wirksamkeit etwas weniger als *Crotalus adamanteus*-Toxin reduziert. Die Inaktivierung dieser Gifte beginnt jedoch ebenfalls schon bei 60° C; nur *Bothrops atrox*-Toxin scheint bei 60° eine gewisse Resistenz zu besitzen.

II. Die Inaktivierung des dehydrasen-hemmenden Prinzips durch spezifisch antitoxische Sera.

Das dehydrasenhemmende Prinzip in Schlangengiften kann nur dann mit einem entscheidenden toxischen Prinzip identifiziert werden, wenn sich die Inaktivierbarkeit der dehydrasenhemmenden Effekte in vitro mit der Inaktivierbarkeit der toxischen Effekte in vivo bei Anwendung spezifischer Sera weitgehend deckt.

Eine solche — auch in quantitativer Hinsicht gute — Übereinstimmung liegt nach unseren vorausgegangenen Untersuchungen[8] beim Kobra-Gift vor; denn Kobra-Serum des Pasteur-Instituts (Serum C vom Pferd) inaktiviert das dehydrasenhemmende Prinzip im gleichen Mischungsverhältnis (1 cm³ Serum/0,5 mg Gift) wie das — für die Vergiftung am ganzen Tier entscheidende — toxische Prinzip. Analog zu dem Verhalten am ganzen Tier nimmt dieser Schutzeffekt ab, wenn das Serum verspätet in die vergifteten Muskelpräparate gegeben wird.

Im folgenden wurde geprüft, ob ähnliche Übereinstimmungen wie bei Kobragift auch bei anderen Schlangengiften bestehen. Bei diesen Arbeiten wurde Kobra-Serum C und Serum ER des Pasteur-Institutes sowie Jararaca-Serum und Ammodytes-Serum der Behring-Werke verwendet.

a) Das Wirkungsspektrum des Kobra-Serums.

Das Toxin der Spei-Schlange *(Sepedon haemachates)* kann nach Ergebnissen an der weißen Maus (Schlossberger, Bieling und Demnitz[16]) durch Kobra-Serum in gleicher Stärke wie Kobragift inaktiviert werden. Dieser Befund veranlaßte uns auch die Entgiftung von Sepedon haemachates-Toxin am Muskelpräparat in vitro zu verfolgen. Abb. 2 zeigt nun, daß 0,5 cm³ Kobra-Serum* tatsächlich imstande ist, die dehydrasenschädigende Wirkung der Gift-Konzentrationen 1 : 200000 bis 1 : 20000 völlig aufzuheben; auch die Wirkung von Konz. 1 : 10000 wird noch deutlich abgeschwächt. Bei Konz. 1 : 20000 bzw. 1 : 10000 ist in den Ansätzen jeweils 0,25 bzw. 0,5 mg Toxin enthalten: 1 cm³ Kobra-Serum kann also 0,5 mg Sepedon haemachates-Gift völlig

* Das für diese Untersuchung verwendete Kobra-Serum inaktivierte nach persönlicher Mitteilung von Herrn Prof. P. Boquet (Pasteur-Institut) 0,5—0,7 mg Kobra-Toxin/1 cm³ an Mäusen von 18—20 g Gewicht.

inaktivieren und 1,0 mg noch teilweise binden. Für die Wirkungsstärke des Kobra-Serums gegen Sepedon haemachates-Toxin ergibt sich also im Muskelbrei der gleiche Titer wie im Versuch an der weißen Maus. Auch die dehydrasenhemmenden Effekte des *Naja nivea*-Toxins (Konz. 1 : 20000) werden vom Kobra-Serum neutralisiert.

Ein von den Behring-Werken hergestelltes Kobra-Serum zeigte in den Versuchen von Schlossberger, Bieling u. Demnitz[16] auch gegenüber den Giften

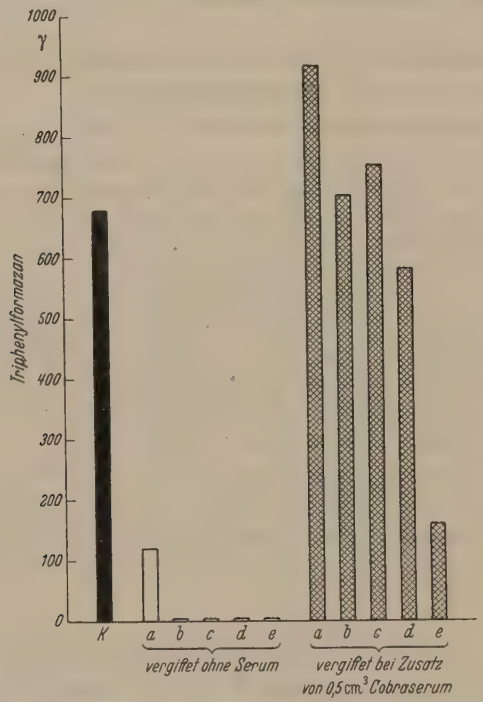


Abb. 2. *Aufhebung der dehydrasenhemmenden Wirkung von Sepedon haemachates-Gift durch 0,5 cm³ Kobra-Serum des Pasteur-Instituts.* (Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat bei Zusatz von Natriumcitrat.) *K* = Unvergiftete Kontrolle mit 0,5 cm³ Kobra-Serum. Sepedon haemachates-Toxin: *a* = Konz. 1 : 200000; *b* = Konz. 1 : 100000; *c* = Konz. 1 : 50000; *d* = Konz. 1 : 20000; *e* = Konz. 1 : 10000.

verschiedener Bothrops-, Crotalus- und Vipern-Arten antitoxische Wirkung, dagegen waren Viperiden-Sera gegenüber Kobra und Sepedon haemachates-Toxin in allen Fällen inaktiv.

Dieses breite Wirkungs-Spektrum des Kobra-Serums tritt nun auch in unseren Versuchen mit dem Serum des Pasteur-Instituts deutlich zutage; so können z. B. die Toxine von *Bothrops atrox*, *Crotalus atricaudatus* und *Agkistrodon contortrix* in ihren dehydrasenschädigenden Effekten erheblich abgeschwächt werden (vgl. Tab. 2). Kobra-Serum besitzt gegenüber Bothrops atrox etwa $^1/_5$, gegen Crotalus atricaudatus

$^1/_5$—$^1/_{10}$, gegen Agkistrodon contortrix etwa $^1/_{10}$ der gegenüber Kobragift ermittelten Wirkungsstärke. Über schwache Effekte des Kobra-Serums gegen *Ammodytes*-Toxin wurde von uns schon früher berichtet, gänzlich unbeeinflußt blieb das dehydrasenhemmende Prinzip des Bienengifts.

Tabelle 2. *Einfluß von 0,5 cm³ Kobra-Serum C auf die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch die Gifte von Bothrops atrox, Crotalus atricaudatus und Agkistrodon contortrix.*

(Hemmung der Triphenylformazan-Bildung in Prozenten nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° C mit und ohne Serum.)

Gifte	Hemmung % ohne Serum	Hemmung % mit Serum	Angewandte Giftkonzentrationen
Bothrops atrox	100	86	1 : 20000
„	94	41	1 : 50000
„	72	11	1 : 100000
„	57	10	1 : 200000
Crotalus atricaudatus . . .	100	71	1 : 20000
„	88	52	1 : 50000
„	83	27	1 : 100000
„	73	3	1 : 200000
Agkistrodon contortrix . . .	100	90	1 : 20000
„	100	63	1 : 50000
„	92	43	1 : 100000
„	86	15	1 : 200000

b) Das Wirkungsspektrum des Ammodytes-Serums.

Sandvipern-Serum *(Ammodytes ammodytes)* der Behring-Werke vom Pferd schützt nach Versuchen an der weißen Maus[16] gegen die Gifte europäischer Vipern sowie südamerikanischer Bothrops-Arten. Die Toxine von Agkistrodon piscivorus und von einigen Klapperschlangen (z. B. Crotalus adamanteus) wurden durch genügende Serummengen ebenfalls noch inaktiviert. Dagegen erwies sich Ammodytes-Serum in diesen Versuchen gegenüber den Giften von Sepedon haemachates, Cobra und Crotalus terrificus als völlig unwirksam.

Diese spezifischen Wirkungsunterschiede des Ammodytes-Serums gegenüber den verschiedenen Giften spiegeln sich auch in der Beeinflußbarkeit des dehydrasenhemmenden Prinzips in vitro wieder: Am stärksten scheint Ammodytes-Serum gegen die Dehydrasenhemmung durch *Ammodytes*-Toxin zu schützen; 1 cm³ Serum konnte in unseren Versuchen annähernd 0,1—0,2 mg* Toxin entgiften. Etwas schwächer ist der antagonistische Einfluß gegenüber dem Gift von *Bothrops atrox* (vgl. Tab. 3); hier wurde durch 1 cm³ Serum etwa 0,05 mg Toxin inaktiviert. In Tab. 3 sind auch die relativ geringfügigen Effekte des Ammodytes-Serums

* Nach persönlicher Mitteilung von Herrn Prof. Demnitz (Behring-Werke) werden bei der Testierung im Mäuseversuch durch 1 cm³ Ammodytes-Serum etwa 0,3 mg Ammodytes-Toxin gebunden.

bei Vergiftung des Muskelbreis mit den Toxinen von *Agkistrodon contortrix* und *Crotalus atricaudatus* wiedergegeben. Völlig inaktiv war Ammodytes-Serum gegenüber den Dehydrasenhemmungen durch die Gifte von *Sepedon haemachates*, *Kobra*, *Crotalus terrificus* sowie gegenüber *Bienengift*. *Auch diese Ergebnisse zeigen, daß die Neutralisation des dehydrasenhemmenden Prinzips ziemlich parallel mit den im Tierversuch ermittelten antitoxischen Wirkungen des Ammodytes-Serums geht.*

Tabelle 3. *Einfluß von 0,5 cm³ Ammodytes-Serum auf die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch einige Schlangengifte.*

(Hemmung der Triphenylformazan-Bildung in Prozenten nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° mit und ohne Serum*.)

Gifte	Hemmung % ohne Serum	Hemmung % mit Serum	Angewandte Giftkonzentrationen
Ammodytes ammodytes . . .	100	42(+)	1 : 50000
„	100	29(+)	1 : 100000
„	97	18(+)	1 : 200000
„	95	7(+)	1 : 400000
Bothrops atrox	99	56	1 : 100000
„	77	0	1 : 200000
Agkistrodon contortrix . . .	100	100	1 : 20000
„	100	100	1 : 50000
„	92	73	1 : 100000
„	86	43	1 : 200000
Crotalus atricaudatus	59	60	1 : 100000
„	34	0	1 : 200000

* Ammodytes-Serum der Behring-Werke hemmt — offenbar infolge konservierender Zusätze — die Zitronensäure-Dehydrierung in den unvergifteten Kontrollen beträchtlich. Die Testierung wurde daher in den mit (+) bezeichneten Ansätzen nur mit 0,25 cm³ Serum in den Röhrchen vorgenommen; auch diese Serummenge ist noch nicht unschädlich. Die prozentuale Hemmung in den vergifteten Ansätzen ohne Serum wurde jeweils auf die unvergifteten Kontrollen ohne Serum, die prozentuale Hemmung in den vergifteten Ansätzen mit Serum auf die unvergifteten Kontrollen mit Serum bezogen; diese Berechnungsweise wurde auch bei Ermittlung der Prozentwerte von Tab. 2, 4 und 5 angewendet.

c) Das Wirkungsspektrum des Serums ER.

Das europäische Vipernserum des Pasteur-Instituts ist durch Immunisierung von Pferden mit dem Gift der Aspis-Viper (Vipera ammodytes aspis) gewonnen, die vor allem in Frankreich, Italien, Schweiz und in den westlichen Mittelmeerländern zu finden ist. Serum-ER hat nach der Testierung im Mäuseversuch[16] auch gegen Vipera ammodytes ammodytes (Sandviper) und Vipera berus berus (Kreuzotter) eine ausgesprochene Neutralisationswirkung. Stark sind auch die Effekte gegenüber den meisten Bothrops-Giften, während die Klapperschlangen-Toxine nur schwach oder gar nicht beeinflußt werden. Colubriden-Gifte sind bei Prüfung an der Maus durch Serum-ER nicht inaktivierbar.

Unsere Versuche zeigen nun, daß Serum-ER auch das dehydrasenhemmende Prinzip im *Ammodytes*-Gift mit beachtlicher Stärke neutralisieren kann (vgl. Abb. 3). Während Ammodytes-Toxin in der Kon-

zentration 1 : 200000—1 : 10000 den anaeroben Abbau der Zitronensäure durch Muskelbrei gänzlich blockiert, wird die Wirkung von Konz. 1 : 200000 und Konz. 1 : 100000 durch 0,5 cm³ Serum-ER aufgehoben und der Effekt von Konz. 1 : 50000 und Konz. 1 : 20000 entsprechend abgeschwächt: 1 cm³ Serum-ER schützt demnach im Dehydrasenversuch gegen 0,1 bzw. 0,2 mg Ammodytes-Gift vollständig bzw. fast vollständig; auch 0,5 mg wird in seiner Wirkung noch deutlich reduziert. *Bei der Neutralisation des dehydrasenhemmenden Prinzips im Ammo-*

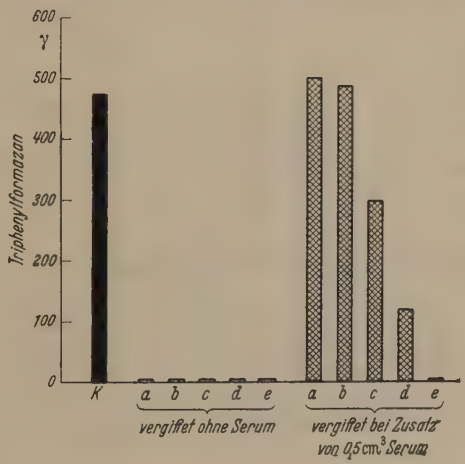


Abb. 3. *Aufhebung der dehydrasenhemmenden Wirkung von Ammodytes-Gift durch 0,5 cm³ Serum ER des Pasteur-Instituts.* (Bildung von Triphenylformazan in γ/1 g Muskelpräparat bei Zusatz von Natriumcitrat.) *K* = Unvergiftete Kontrolle mit 0,5 cm³ Serum. *Ammodytes*-Toxin: *a* = Konz. 1 : 200000; *b* = Konz. 1 : 100000; *c* = Konz. 1 : 50000; *d* = Konz. 1 : 20000; *e* = Konz. 1 : 10000.

dytes-Toxin durch ER-Serum ergibt sich also der gleiche Serum-Titer wie bei Verwendung von Ammodytes-Serum.*

Gegen die dehydrasenhemmende Wirkung von *Kobra-*, *Bienen-*** und *Sepedon haemachates*-Gift war Serum-ER ohne schützenden Einfluß. Dagegen hat Serum ER (vgl. Tab. 4) gegenüber den Giften von *Bothrops atrox* und *Crotalus atricaudatus* mittelstarke Schutzeffekte; *Agkistrodon contortrix*-Toxin wird weniger abgeschwächt.

* Für die Untersuchungen wurde von Herrn Prof. P. Boquet (Pasteur-Institut) ein ganz frisches, nicht erhitztes Serum ohne konservierende Zusätze in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt; 1 cm³ dieses Serum neutralisierte bei der Prüfung in Paris 0,5 mg Vipera aspis-Toxin.

** Eine Angabe von M. Phisalix[15], nach welcher Mäuse und Meerschweinchen durch Bienengift gegen tödliche Mengen Aspis-Vipern-Gift sowie umgekehrt durch Aspis-Vipern-Gift gegen tödliche Mengen Bienengift zu immunisieren sind, wäre nachzuprüfen. Ähnliche Befunde anderer Autoren — betreffend die wechselseitige Immunisierbarkeit mit Schlangengiften und Skorpionengift – konnten von Schlossberger, Bieling und Demnitz[16] nicht bestätigt werden.

Tabelle 4. *Einfluß von 0,5 cm³ Serum ER auf die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch die Gifte von Bothrops atrox, Crotalus atricaudatus und Agkistrodon contortrix.*

(Hemmung der Triphenylformazan-Bildung in Prozenten nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° C mit und ohne Serum.)

Gifte	Hemmung % ohne Serum	Hemmung % mit Serum	Angewandte Giftkonzentration
Bothrops atrox	100	87	1 : 20000
,,	100	68	1 : 50000
,,	77	40	1 : 100000
,,	72	12	1 : 200000
Crotalus atricaudatus	100	45	1 : 20000
,,	88	37	1 : 50000
,,	83	25	1 : 100000
,,	73	18	1 : 200000
Agkistrodon contortrix . . .	100	92	1 : 50000
,,	93	79	1 : 100000
,,	96	52	1 : 200000

d) Das Wirkungsspektrum des Jararaca-Serums.

Anti-Bothrops *(Jararaca)*-Serum der Behring-Werke wird durch Immunisierung von Pferden mit dem Gift von Bothrops Jararaca (Südamerika) hergestellt. Dieses Serum besitzt bei Testierung an der weißen Maus gegen Toxine südamerikanischer Bothrops-Arten eine starke, gegen Vipern-Gifte eine mittelstarke, gegen einige Crotalus-Gifte eine ziemlich schwache oder keine neutralisierende Wirkung (Schlossberger, Bieling u. Demnitz[16]). Colubriden-Gifte (Cobra, Sepedon haemachates) werden nicht inaktiviert.

In Übereinstimmung mit diesen Befunden kann Gift von *Bothrops atrox* im Dehydrasenversuch in Konz. 1 : 200000 praktisch vollständig und in Konz. 1 : 100000 zum Teil durch 0,5 cm³ Jararaca-Serum zerstört werden: 1 cm³ Serum neutralisiert dabei etwa 0,05 mg Gift; dieser Titer ist derselbe wie gegenüber *Ammodytes*-Toxin (vgl. Tab. 6).

Agkistrodon contortrix-Toxin wird von Jararaca-Serum weniger gut inaktiviert: Nur in den Ansätzen mit schwachen Toxin-Konzentrationen (1 : 800000 und 1 : 400000) gibt 0,5 cm³ Serum einen vollen Schutz, bei Konz. 1 : 200000 ist die Entgiftung schon mangelhaft; 1 cm³ Jararaca-Serum kann demnach nur 0,025 mg Gift von Agkistrodon contortrix binden.

Der Einfluß des Jararaca-Serums auf *Klapperschlangen*-Toxine ist aus Tab. 5 ersichtlich: Die Gifte von *Crotalus basiliscus* und *Crotalus terrificus** konnten in bestimmten Konzentrationsbereichen (Konz.

* In den Untersuchungen von Schlossberger, Bieling u. Demnitz[16] an der weißen Maus erwies sich Jararaca-Serum der Behring-Werke gegen Crotalus terrificus als inaktiv; gleichzeitig geprüftes Anti-Bothrops-Serum aus dem Institut von Butantan (Brasilien) war dagegen wirksam. Es ist von Interesse, daß sich mit unserer Methodik nunmehr auch eine gewisse Zerstörung von Crotalus terrificus-Gift durch Jararaca-Serum der Behring-Werke erfassen läßt.

1 : 100000 bzw. 1 : 200000) weitgehend neutralisiert werden. Die starke Inaktivierung des Giftes von *Crotalus basiliscus* ist dabei besonders bemerkenswert (1 cm³ neutralisiert etwa 0,1 mg). Dagegen waren die Gifte von *Crotalus atricaudatus*, *Crotalus adamanteus*, *Crotalus viridis* in keiner der geprüften Konzentrationen voll zu inaktivieren. Gegenüber *Kobra-* und *Crotalus atrox*-Toxin sowie *Bienengift* ist Jararaca-Serum ohne Effekt. Auch bei Verwendung von Jararaca-Serum stimmt also die Breite des Wirkungsspektrums und die quantitative Abstufung der antitoxischen Effekte mit den im Mäuseversuch ermittelten Aktivitäten im großen und ganzen — soweit vergleichbare Angaben vorhanden sind — überein.

Tabelle 5. *Einfluß von Jararaca-Serum auf die Hemmung der Zitronensäure-Dehydrierung durch Crotaliden-Gifte.*

(Hemmung der Triphenylformazan-Bildung aus Zitronensäure in Prozenten* nach 3 Std Inkubation der Gifte bei 30° C mit und ohne Serum.)

Gifte	Hemmung % ohne Serum	Hemmung % mit Serum	Angewandte Giftkonzentration
Bothrops atrox	97	62	1 : 100000
,,	85	10	1 : 200000
Agkistrodon contortrix. . . .	100	100	1 : 100000
,,	100	82	1 : 200000
,,	100	0	1 : 400000
,,	93	0	1 : 800000
Crotalus basiliscus	91	0	1 : 100000
,,	53	4	1 : 200000
Crotalus terrificus	100	70	1 : 100000
,,	100	38	1 : 200000
Crotalus atricaudatus	74	42	1 : 100000
,,	52	21	1 : 200000
Crotalus adamanteus	98	78	1 : 20000
,,	90	64	1 : 50000
Crotalus viridis	71	70	1 : 100000
,,	85	39	1 : 200000
Crotalus atrox	93	93	1 : 50000
,,	67	58	1 : 100000

* Jede Prozentzahl stellt den Mittelwert aus 2 Parallelversuchen dar. Auch Jararaca-Serum der Behring-Werke hemmt — ähnlich wie Ammodytes-Serum — von sich aus die Zitronensäure-Dehydrierung (im Mittel etwa 28% gegenüber den serumfreien unvergifteten Kontrollen).

Besprechung.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen auf breiterer Grundlage, daß das im Gift der Colubriden, Viperiden und Bienen vorkommende dehydrasenschädigende Prinzip — beurteilt nach den charakteristischen Besonderheiten in der Hitzeresistenz und nach der serologischen Spezifität — mit dem entscheidenden toxischen Prinzip identisch sein könnte:

a) Bienengift ist durch Kobra-, Ammodytes- und Jararaca-Serum sowie durch Serum ER in seiner dehydrasenhemmenden Wirksamkeit nicht zu inaktivieren.

b) Colubriden-Gifte (Kobra, Sepedon haemachates) werden in ihren Effekten auf die Muskel-Dehydrasen durch Kobra-Serum in gleicher Stärke wie das native Giftsekret neutralisiert.

c) Die gegen Kobrabiß inaktiven Sera (Ammodytes- und Jararaca-Serum, Serum ER) sind auch im Muskelbrei gegen Colubriden-Gifte ohne Effekt.

d) Dagegen hat Kobra-Serum in vitro und in vivo gegen einige Viperiden-Gifte mäßige Schutzwirkung.

e) In gleicher Weise wie an der weißen Maus treten auch im Dehydrasenversuch zahlreiche Überschneidungen in der wechselseitigen Inaktivierbarkeit der Gifte europäischer Vipern und amerikanischer Viperiden (Bothrops, Agkistrodon, Crotalus) durch die entsprechenden Sera zutage.

f) Die dehydrasenhemmenden Komponenten des Bienengifts, der Colubriden-Gifte und der Viperiden-Gifte werden jeweils durch ganz ähnliche Temperaturen zerstört wie die toxischen Effekte im Tierversuch.

In Tab. 6 sind die wichtigsten serologischen Ergebnisse* nochmals zusammengefaßt und die Wirkungsstärken der einzelnen Sera im Dehydrasenversuch angegeben. Diese Werte beanspruchen vorerst nur wissenschaftliches Interesse und sollen selbstverständlich nicht als praktische Richtschnur für therapeutische Serum-Dosierungen dienen, da hierfür allein der Tierversuch als maßgeblich angesehen werden kann.

Trotz der auffälligen Parallelen zwischen dehydrasen-hemmender und toxischer Wirkung dürfen unsere Befunde nicht zu voreiligen Verallgemeinerungen verleiten; denn die Existenz weiterer — mit dem dehydrasen-hemmenden Prinzip nicht identischer — Partial-Toxine (z. B. Hämorrhagine, Hämolysine) ist bei den meisten der vorliegenden Schlangengifte nicht auszuschließen bzw. sogar wahrscheinlich.

* Enge Beziehungen zum dehydrasen-hemmenden Prinzip zeigt ein — die Hitzekoagulation von Eidotter hemmendes — Prinzip, das gleichfalls in Bienengift und Schlangengiften vorkommt (vgl. Fleckenstein u. Fettig[9]). *Auch diese Giftkomponente kann nach unseren Untersuchungen durch antitoxische Sera in ähnlicher Weise wie das dehydrasen-hemmende Prinzip neutralisiert werden*; dementsprechend ist der koagulations-verzögernde Effekt von Bienengift im Eidotter durch keines der geprüften Sera zu hemmen, während gegen Kobragift allein das Cobra-Serum schützt und bei den Viperiden-Giften wieder Überschneidungen bestehen. Von besonderem Interesse ist, daß dieses koagulations-verzögernde Prinzip nach unseren Befunden den Charakter einer — durch Fluorid, Oxalat, Citrat, Zinksalze und Phloridzin hemmbaren — Phosphatase aufweist, und daß umgekehrt auch das dehydrasen-hemmende Prinzip durch Phosphatase-Inhibitoren (Fluorid, Citrat, Oxalat) gehemmt werden kann. Über diese Untersuchungen wird demnächst in extenso berichtet.

Bitis arietans-Gift hat z. B. trotz hoher Toxizität, wie schon früher berichtet, kaum eine dehydrasen-hemmende Wirksamkeit. Auch beim Toxin von Naja nivea besteht eine Diskrepanz zwischen der Stärke der Dehydrasenhemmung und der Giftwirkung. Dieser Umstand zeigt, daß bei manchen Schlangengiften sicherlich auch andere toxische Komponenten in den Vordergrund treten können. Vor allem bei den Viperiden-Giften bedarf die Rolle der Hämorrhagine noch weiterer Klärung; nur bei dem hämorrhaginfreien Cobra- und Sepedon haemachates-Gift dürfte schon jetzt das dehydrasen-hemmende Prinzip als der Haupt-Träger der toxischen Wirkung in hohem Maße wahrscheinlich sein.

Tabelle 6. *Inaktivierung* des dehydrasen-hemmenden Prinzips verschiedener Schlangengifte durch verschiedene antitoxische Sera.*

(Angabe der Giftmengen in Milligrammen, die durch 1 cm³ Serum inaktiviert werden.)

Gifte	Kobra-Serum	Ammodytes-Serum	Serum ER	Jararaca-Serum
Cobra	0,5	unwirksam	unwirksam	unwirksam
Sepedon haemachates	0,5	unwirksam	unwirksam	unwirksam
Ammodytes ammodytes	geringe Abschwächung	0,1—0,2	0,1—0,2	0,05
Crotalus atricaudatus .	0,05—0,1	Abschwächung	0,05—0,1	Abschwächung
Bothrops atrox	0,1	0,05	0,05	0,05
Agkistrodon contortrix	0,05	Abschwächung	Abschwächung	0,025
Bienengift	unwirksam	unwirksam	unwirksam	unwirksam

* Als Inaktivierung wurde eine Herabsetzung der Dehydrasenhemmung auf unter 20% angesehen.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen einen neuen Weg, die Wirkungen von Schlangengiften in vitro quantitativ zu erfassen. Besonders für das Studium serologischer Spezialfragen dürfte die Dehydrasen-Methode infolge ihrer hohen Empfindlichkeit und Genauigkeit Vorteile bieten. Auch die praktische Anwendung der Methode zur Titrierung antitoxischer Sera scheint — in Anbetracht der guten Übereinstimmung zwischen Dehydrasen-Test und Tierversuch — in bestimmten Fällen (z. B. Kobra-Serum gegen Kobra- oder Sepedon haemachates-Gift) aussichtsreich zu sein. Auf die Mängel der bisherigen in-vitro-Testierung ist von Boquet und Lehoult[1] hingewiesen worden.

Zusammenfassung.

1. Die dehydrasenhemmenden Effekte von zahlreichen Schlangengiften (Colubriden und Viperiden) werden durch Erhitzung und durch spezifisch antitoxische Sera jeweils in ganz ähnlicher Weise — und in einzelnen Fällen mit genau der gleichen Stärke — aufgehoben wie die Giftwirkung am ganzen Tier. Dagegen sind Schlangen-Sera gegenüber dem gleichfalls dehydrasenhemmenden, wenig hitzeempfindlichen Bienengift ohne Einfluß.

2. Die dehydrasenhemmende Wirksamkeit von Schlangengiften und die Inaktivierung durch Sera kann unter Verwendung von Triphenyltetrazoliumchlorid in vitro quantitativ erfaßt werden. Dieses Verfahren eröffnet — neben dem bisher meist geübten Versuch am ganzen Tier — neue exakte Möglichkeiten für toxikologische und serologische Studien.

Für die Überlassung der benötigten Sera sind wir Herrn Prof. Dr. Boquet (Pasteur-Institut) und Herrn Prof. Dr. Demnitz (Behring-Werke) zu großem Dank verpflichtet. Bei der Beschaffung von Schlangengiften war die Importfirma van Wankum & Gätjens, Hamburg 1, Heidenkampsweg 32, wieder in großzügiger Weise behilflich. Bienengift wurde uns von Herrn Dr. Forster (Firma Mack & Co., Illertissen) freundlichst überlassen.

Für die entscheidende Förderung der vorliegenden Arbeiten haben wir besonders Herrn Prof. Dr. F. Eichholtz zu danken.

Literatur.

[1] Boquet, P., u. Y. Lehoult: Rev. d'Immunologie **12**, 116 (1948). — [2] Calmette, A.: Les venins. Paris 1907. — [3] Do Amaral, A.: Amer. J. trop. Med. **4**, 447 (1924). — [4] Faust, E. St.: Handb. d. exper. Pharmakol. Bd. II, S. 1748 (1924). — [5] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 189 (1949). — [6] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Frankfurt: Dr. Dietrich Steinkopff-Verlag 1949. — [7] Fleckenstein, A., u. G. Berg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 184 (1951). — [8] Fleckenstein, A., G. Berg, J. Gayer u. S. Schönig: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **213**, 265 (1951). — [9] Fleckenstein, A., u. B. Fettig: Z. Naturforschg. **6 b**, 213 (1951). — [10] Fleckenstein, A., u. J. Gayer: Klin. Wschr. **28**, 789 (1950). — [11] Fleckenstein, A., H. Tippelt u. H. Kroner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — [12] Kuhn, R., u. D. Jerchel: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 941, 949 (1941). — Jerchel, D., u. W. Möhle: Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 591 (1944). — [13] Langer, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **38**, 381 (1897). — [14] zit. n. Maass, Th. A.: Tabulae biologicae IX, 160 (1934). — [15] Phisalix, M.: C. r. Acad. Sci. Paris **194**, 2086 (1932). — [16] Schlossberger, H., R. Bieling u. A. Demnitz: Behring-Werk-Mitteilungen H. 7, 111 (1936). — [17] Yamaguti: Z. Hyg. **100**, 182 (1923).

Dozent Dr. A. Fleckenstein, Heidelberg, Hauptstr. 47-51, Pharmak.Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 213, S. 551—564 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. B. Behrens).

Modellversuche über die adsorptive Verdrängung als mögliche Teilursache der typischen Antihistaminwirkung.

Von
Gerhard Zetler.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. April 1951.)

Heubner[1] schrieb vor 31 Jahren: „Ein lebendiger Organismus ist ganz gewiß kein Reagensglas, aber noch viel weniger ein Stalagmometer!" Er wandte sich damit gegen Traubes[2] „physikalische Theorie" der pharmakologischen Wirkungen. Wir waren uns bei der Anstellung der zu schildernden Versuche sowie deren Deutung immer dieses Satzes bewußt, und wir wollen von vornherein feststellen, daß wir untersuchen wollten, ob die gebräuchlichsten Antihistaminika überhaupt über physikalisch-chemische Eigenschaften verfügen, die zu dem Gedanken an die adsorptive Verdrängung als Ursache oder mögliche Teilkomponente der spezifischen Antihistaminwirkung berechtigen.

Veranlaßt wurden wir zu dieser Arbeit durch unsere[3] Versuche über den Antagonismus zwischen Histamin und Antihistaminika im Rahmen der Blutgerinnung. Dabei hatte sich gezeigt, daß die gerinnungsfördernde Wirkung des Histamins auch in völlig zellfrei zentrifugiertem Plasma durch Antihistaminika vermindert oder aufgehoben wurde; da dies also in Abwesenheit der sonst bei den üblichen biologischen Versuchsobjekten stets vorhandenen Membranen beobachtet wurde, entschlossen wir uns damals, für das Zustandekommen der beobachteten Antihistaminwirkung die adsorptive Verdrängung des Histamins von den Makromolekülen der Blutgerinnungskomponenten zu erwägen. Besonders ermutigt wurden wir dazu durch die kleine Nebenbeobachtung, daß die Antihistaminlösungen beim Schütteln deutlich schäumten; die Antihistaminika mußten somit die Oberflächenspannung des Wassers herabsetzen, d. h. sie mußten oberflächenaktiv sein. Damit schien die wichtigste Voraussetzung für den Mechanismus der adsorptiven Verdrängung des Histamins durch die Antihistaminika gegeben zu sein, da bekanntlich nur oberflächenaktive Substanzen solche Wirkungen ausüben können (siehe z. B. die Versuche von Rona und v. Toth[4]).

Soweit wir die Literatur überblicken, haben die Autoren, die die Frage der adsorptiven Verdrängung des Histamins durch Antihistaminika behandelten

(Bucher[5]; Schild[6]; Wells, Morris, Bull u. Dragstedt[7]; Lehmann, Randall u. Hagan[8]; Wilbrandt[9]), nicht untersucht, wie es sich tatsächlich mit der meßbaren Oberflächenaktivität des Histamins und der Antihistaminika verhält; vielmehr spielen theoretische Überlegungen und Berechnungen bei diesen Autoren die Hauptrolle (ausgehend von den gewissermaßen vorbereitenden Berechnungen von Clark[10] und Gaddum[11]). Wir stellten uns deshalb die Aufgabe, die Oberflächenspannungen der wäßrigen Lösungen des Histamins und der Antihistaminika zu ermitteln; ferner wollten wir in Modellversuchen prüfen, ob die Antihistaminika wenigstens an unbelebten, wohldefinierten Oberflächen (z. B. der Kohle) Histamin verdrängen können. Denn bei der Kompliziertheit sämtlicher etwa in Frage kommender biologischer Objekte können nur Versuche an unbelebten Oberflächen klare Aussagen ermöglichen, da bei den zahlreichen biologischen Imponderabilien die Kritik wohl immer Ansatzpunkte finden würde. Unseres Wissens sind bisher solche Modellversuche mit den uns interessierenden Stoffen noch nicht vorgenommen worden, obwohl bekannt ist, daß durch Modellversuche dieser Art sehr wohl pharmakologische Probleme mit Erfolg angegangen werden können; gelangte doch z. B. Warburg (zusammengefaßt bei Wintersteín[12]) auf diese Weise zu seiner bekannten Adsorptionstheorie der Narkose.

Methodik.

Wir verwandten zu den stalagmometrischen Messungen (gegen Luft) 0,001 molare Lösungen (bezogen auf den Basengehalt der Salze) des Histamins sowie der Antihistaminica Antistin, Pyribenzamin, Neo-Antergan, Synopen und Thephorin* in Pufferlösungen nach Sörensen. Diese niedrige Konzentration der Stoffe schien uns biologischen Verhältnissen nahezukommen; wir verwandten sie auch bei den erwähnten Blutgerinnungsversuchen. Mit höheren Konzentrationen würde man natürlich noch deutlichere Effekte bekommen. Wir benutzten ein Stalagmometer in der von uns geringfügig modifizierten Anordnung nach Schemensky (zit. nach Rona[13]), die eine konstante Auslaufgeschwindigkeit gewährleistet. Der Inhalt des Stalagmometers betrug bei 20° C (bei dieser Temperatur wurden alle Messungen vorgenommen) 4,84 cm^3; für Aqua dest. ergaben sich 161,71 Tropfen (mittlerer Fehler der Einzelbeobachtung: $\pm 0{,}24$; mittlerer Fehler des Mittelwertes: $\pm 0{,}01$), die Entstehungsdauer eines Aqua dest.-Tropfens betrug in der ersten Hälfte der Auslaufzeit 3,34 sec (mittlerer Fehler des Mittelwertes: $\pm 0{,}0338$), in der zweiten Hälfte 3,70 sec ($\pm 0{,}0438$); entsprechend dieser Tropfgeschwindigkeit drücken die gewonnenen Tropfenzahlen eine halb dynamische und halb statische Oberflächenspannung aus. In Vorversuchen zeigte sich, daß auch die angewandten Pufferlösungen nach Sörensen wie zu erwarten allein schon im Vergleich zu Aqua dest. eine erhöhte Oberflächenspannung besitzen; wir verwerteten deshalb nicht die in den Versuchen erhaltenen absoluten Tropfenzahlen der Antihistamin- oder Histaminlösungen (etwa durch die Umrechnung in die üblichen physikalischen Maßeinheiten), sondern wir benutzten als Maß für die Oberflächenspannungsänderung die Differenz zwischen den Tropfenzahlen der eben erwähnten Lösungsgemische und denen der Pufferlösungen selbst. Somit bezogen wir uns also nicht auf die Oberflächenspannung des Wassers, sondern wir verglichen die Größen der Tropfenzahländerungen durch die untersuchten Stoffe miteinander. Dadurch erhielten wir Zahlenwerte, die für unsere orientierenden Zwecke immerhin ausreichend waren.

* Für die freundliche Überlassung von Proben der von uns untersuchten Antihistaminika danken wir folgenden herstellenden Firmen: Ciba-AG. (Antistin und Pyribenzamin), Specia-Paris (Neo-Antergan), Geigy-AG. (Synopen) und Hoffmann-La Roche (Thephorin).

Die Stalagmometrier-Lösungen setzten sich folgendermaßen zusammen: Leerversuch: 8,0 cm³ Pufferlösung + 2,0 cm³ 0,01 molare NaCl-Lösung. Von dieser NaCl-Lösung wurden dann in den Antihistamin- bzw. Histaminversuchen 1,0 cm³ durch 1,0 cm³ 0,01 molarer Lösungen dieser Stoffe ersetzt; jeder einzelne Zahlenwert ist der Mittelwert aus mindestens 2 Tropfenzählungen. Die Pufferlösungen ergaben in den Leerversuchen folgende Tropfenzahlen (Aqua dest. = 161,71 gtt):

p_H:	5,4	6,0	7,0	7,4	8,0	9,0	10,0
gtt:	157,47	150,47	154,84	155,43	158,82	161,69	162,66

Zu den Modellversuchen: Als Adsorbentien benutzten wir Carbo medicinalis Merck, Talcum, Kaolin und Aluminium oxydat. anhydric. (standardisiert nach Brockmann) Merck. Die einzelnen Adsorptionsansätze sind im späteren Text geschildert. Die Histamintestung führten wir am isolierten und in Tyrodelösung suspendierten Meerschweinchenileum durch; zur Unterdrückung der Spontanbewegungen der Därme enthielt die Tyrodelösung 0,25% $MgCl_2$. Die Menge der Badeflüssigkeit betrug 30 cm³; Aufzeichnung der Kontraktionen auf Russkymographion mittels Stirnschreibers.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der stalagmometrischen Messungen sind in Abb. 1 und Abb. 2 dargestellt. Wie wir schon vermuteten, erniedrigen die Antihistaminika die Oberflächenspannung der Pufferlösungen deutlich, ferner macht sich eine Abhängigkeit vom p_H bemerkbar. Auffallend ist, daß sich Histamin eindeutig dadurch von den Antihistaminika unterscheidet, daß es die Oberflächenspannung etwas erhöht; die Antihistaminika sind also oberflächenaktiv, Histamin oberflächeninaktiv. Es scheint uns von großer Bedeutung zu sein, daß sich ein Gegensatz zwischen diesen beiden Stoffgruppen auch in diesen klaren physikalisch-chemischen Eigenschaften zeigt, der somit dem bekannten pharmakologischen Gegensatz parallel geht. Wie auch unter den bekannten biologischen Bedingungen wirken hinsichtlich der Oberflächenaktivität die verschiedenen Antihistaminika trotz der großen Abweichungen in ihrem chemischen Bau gleichsinnig und zu Histamin gegensätzlich. Aber die Parallele zu den biologischen Verhältnissen geht noch weiter, da die Antihistaminika an Hand ihrer Oberflächenaktivität wie auch entsprechend ihrer pharmakologischen Wirksamkeit etwa in der gleichen Reihenfolge angeordnet werden können.

Die Abhängigkeit der Oberflächenspannung von der Wasserstoffionenkonzentration ist nicht verwunderlich, es fragt sich nur, was aus dem Verlaufe der Kurven in Abb. 1 zu entnehmen ist. Dazu sei noch erwähnt, daß mit steigendem p_H Trübungen in den Mischungen eintraten, die auf ein Ausfallen der freien Basen zurückzuführen sind. Interessanterweise traten diese Trübungen bei den am stärksten oberflächenaktiven Stoffen Thephorin und Synopen schon bei p_H 9,0, bei den weniger aktiven Antihistaminika Neo-Antergan und Pyribenzamin erst bei p_H 10,0 auf. Da nach Höber[14] organische Säuren nur dann oberflächenaktiv sind, wenn sie undissoziiert sind (vgl. auch Rona und

v. Toth[4]), da andererseits Carson und Campbell[15] fanden, daß Antihistaminika (darunter Antistin und Pyribenzamin) das Wachstum pathogener Pilze nicht in saurem, wohl aber in alkalischem Milieu hemmten, glauben wir im Zusammenhang mit den oben erwähnten Trübungen annehmen zu dürfen, daß die Oberflächenaktivität der untersuchten Antihistaminika im alkalischen Milieu vielleicht wegen der Abnahme der Dissoziation ansteigt.

Die Bewegungen der Histaminkurve in Abb. 1 sind nur gering. Aus dem biphasischen Verlauf, der sich übrigens auch bei den Antihista-

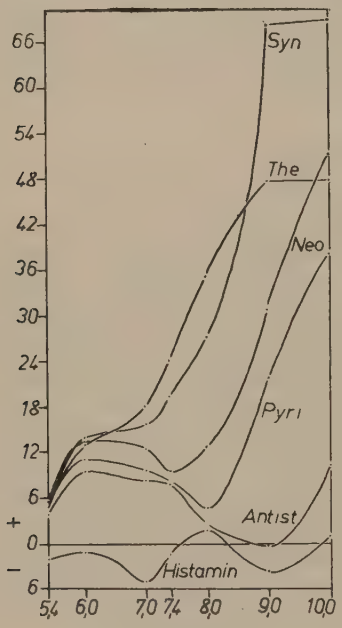


Abb. 1.

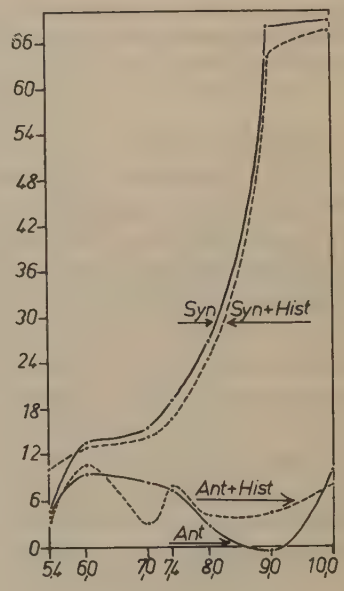


Abb. 2.

Abb. 1. Oberflächenspannung der Antihistaminika Antistin (Ant.), Pyribenzamin (Pyr.), Neo-Antergan (Neo.), Synopen (Syn.) und Thephorin (The.) sowie des Histamins in Abhängigkeit vom p_H. Dargestellt ist die Zu- oder Abnahme der Tropfenzahl in Bezug auf die Tropfenzahlen der jeweiligen Pufferlösung. Ordinate: Anzahl der Tropfen; positiv = Zunahme, negativ = Abnahme der Gesamttropfenzahl. Abszisse: p_H.

Abb. 2. Einfluß der Anwesenheit des Histamins in den Stalagmometriergemischen auf zwei der in Abb. 1 dargestellten Kurven (Antistin und Synopen). Koordinaten wie Abb. 1.

minika andeutet, möchten wir unverbindlich auf eine Ampholytnatur des Histamins schließen, da die Kurve in ihrer Form sehr stark an die Kurven erinnert, die man erhält, wenn man Eiweißlösungen in Abhängigkeit vom p_H stalagmometriert (de Caro sowie D'Agostino, zit. n. Herčik[16]).

Ferner stalagmometrierten wir die Antihistaminika in Anwesenheit von Histamin, indem wir die 2,0 cm³ der 0,01 molaren NaCl-Lösung

durch je 1,0 cm³ einer 0,01 molaren Histamin- und Antihistaminlösung ersetzten. Abb. 2 zeigt der Übersichtlichkeit wegen nur 2 der erhaltenen 5 Kurven, verglichen mit den entsprechenden Antihistaminkurven in Abwesenheit von Histamin. Die Kurven deuten an, daß die gleichzeitige Anwesenheit zweier so verschieden wirkender Stoffe offenbar komplizierte Wirkungen hervorruft, deren Deutung über unsere Aufgabe hinausgeht. Histamin verursacht nicht nur eine einfache Verminderung der Antihistamineffekte, wie dies fast die ganze Synopen-Histaminkurve zu zeigen scheint, vielmehr treten Überschneidungen auf, die bei der großen Genauigkeit unserer Methode zuverlässig sein dürften. Wir sind nicht in der Lage, eine Erklärung für diese Erscheinung geben zu können, die sich bei allen Antihistamin-Histaminmischungen, jedoch keineswegs an den gleichen Punkten zeigte. Jedenfalls scheint auch bei diesen Versuchen und bei unserer unzureichenden Analyse eine Art Antagonismus der beiden Stoffgruppen hervorzutreten. Der scheinbar harmonische Verlauf der beiden Synopenkurven der Abb. 2 — der Unterschied zwischen diesen beiden Kurven ist signifikant — ist wohl kaum auf eine reine „Subtraktionswirkung" von seiten des Histamins zurückzuführen; sonst müßte sich doch irgendwie der Knick der biphasischen Histaminkurve bei p_H 8,0 (Abb. 1) äußern. — Wir erlaubten uns diese wenig tiefgehenden Äußerungen, um Kundigere auf diese Fragen aufmerksam zu machen. Sicher kommt man zu klareren Ergebnissen mit dem bekannten Du Noüyschen Tensiometer, unter Anwendung höherer Konzentrationen und unter systematischer Variation aller Versuchsbedingungen.

Es war nun klar, daß die oberflächenaktiven Antihistaminika von einem geeigneten Adsorbens aufgenommen würden. Für Histamin war dies wegen seiner Oberflächeninaktivität fraglich; kennt man doch nur wenige Stoffe, darunter Glukose, die trotz fehlender Oberflächenaktivität z. B. von Tierkohle adsorbiert werden (Rona und Michaelis[17]). Unsere Versuche zeigten jedoch, daß Histamin ebenso wie die Antihistaminika von Tierkohle adsorbiert wird; damit war die Möglichkeit einer adsorptiven Verdrängung des Histamins von der Oberfläche der Tierkohle durch die Antihistaminika im Modellversuch theoretisch gegeben.

Bei den Adsorptionsversuchen gingen wir folgendermaßen vor: Der Leerwert ohne Adsorbens bestand aus 10,0 cm³ 0,001 molarer Histaminlösung + 1,5 oder 2,0 cm³ 0,01 molarer NaCl-Lösung. Diese NaCl-Lösung wurde in den eigentlichen Adsorptionsversuchen durch Antihistaminlösung gleicher Molarität und Menge ersetzt. In einigen Versuchen wurde noch aus später zu besprechenden Gründen das Netzmittel „Tween 20"* zugesetzt; auch dieser Zusatz wurde bei den ent-

* Hersteller des „Tween 20" ist die Atlas Powder Company in Wilmington-Delaware, USA. Wir danken dem Schweizer Vertreter dieser Firma, Walter Moesch u. Co., Zürich, für die freundliche Überlassung einer Versuchsmenge dieses Stoffes.

sprechenden Leerversuchen berücksichtigt. Die Menge der Adsorbentien betrug durchweg 0,25 g. Es wurde genau 5 min lang geschüttelt und danach sofort klarfiltriert. Gleich darauf erfolgte die Erprobung der Gemische am Meerschweinchendarm.

Nach Michaelis und Ehrenreich[18] adsorbieren Kohle und Talkum neutrale, Kaolin basische und Al_2O_3 saure Stoffe. Diese Adsorbentien wandten wir mit folgendem Ergebnis an: Histamin (Kontraktionshöhe: 65 mm) wird am stärksten von Kaolin (8 mm), mittelstark von Tierkohle (22 mm) und nur schwach von Talkum (52 mm) und Al_2O_3 (47 mm) adsorbiert; weitere Versuche ergaben, daß die Adsorption des Histamins durch Talkum und Al_2O_3 noch viel geringer ist, als es bei dem eben erwähnten Versuch erscheint. Wir möchten deshalb Histamin als Ampholyten (wie schon oben vermutet) mit vorwiegend saurer Reaktion ansprechen. — Wurde nun im Adsorptionsgemisch NaCl-Lösung durch Neo-Anterganlösung ersetzt, so zeigte sich, daß die Kombination Histamin + Neo-Antergan bei Kohle (38 mm) eine stärkere Kontraktion hervorrief als Histamin + Kohle allein (22 mm): *Neo-Antergan hatte also Histamin von der Oberfläche der Tierkohle verdrängt!* Dieser Versuch mißlang bei den anderen Adsorbentien, wobei der jeweilige nachträgliche Zusatz einer Leerversuchsprobe zeigte, daß das Antihistaminikum sich in der Tyrodelösung des Bades befand, d. h. nicht adsorbiert wurde. Neo-Antergan muß neutral reagieren, da es nur von der Tierkohle adsorbiert wurde; aus dem geschwungenen Verlaufe der Stalagmometerkurve (Abb. 1) möchten wir vermuten, daß dieser Stoff — wie vielleicht auch die anderen untersuchten Antihistaminika — ein Ampholyt ist. Talkum und Al_2O_3 adsorbieren also weder Histamin noch Neo-Antergan, Kaolin adsorbiert Histamin stark, das Antihistaminikum jedoch nicht (vgl. S. 557).

Nun stellten wir Kohleversuche mit allen 5 Antihistaminika an, die alle Histamin von der Kohlenoberfläche verdrängten. Um zu zeigen, daß die Antihistaminika Histamin entsprechend ihrer Oberflächenaktivität verdrängen, sind wir gezwungen, 2 Versuche wiederzugeben (Tab. 1).

Tabelle 1. *Höhe der Kontraktion des isol. Meerschweinchenileums (in mm) als Maß der durch die Antihistaminika von der Oberfläche des Adsorbens verdrängten Histaminmenge.*

	Ohne Kohle	Nach Schüttelung mit Tierkohle und Filtration					
	Histamin allein	Histamin allein	Histamin und Antistin	Histamin und Pyribenzamin	Histamin und Neo-Antergan	Histamin und Synopen	Histamin und Theophorin
Versuch A:	74	40	54	58	66	64	60
Versuch B:	52	24	35	39	37	47	50

Durch die Fehlermöglichkeiten vom Abwägen des Adsorbens bis zum Einbringen der Probemengen in die Badeflüssigkeit gestalteten sich die Versuchs-

ergebnisse zwar qualitativ gleichsinnig, quantitativ wechselnd; so schlich sich der Versuchsfehler im Versuch A bei Synopen und Thephorin ein, im Versuch B beim Neo-Antergan. Aber es rehabilitiert der Versuch A den mißglückten Neo-Antergan-wert des Versuches B, der seinerseits zeigt, daß Thephorin stärker als Synopen wirkt.

Die Tatsache, daß Kaolin Histamin sehr stark, Neo-Antergan jedoch überhaupt nicht adsorbiert, erinnerte uns an den einzigen Fall, wo im biologischen Bereich eine eindeutige Histaminwirkung nicht durch Antihistaminika beeinflußt wird, nämlich an den Magensaftfluß nach Histamininjektion. Könnte es nicht so sein, daß die HCl-produzierenden Magenschleimhautzellen sich so ähnlich verhalten wie Kaolin, daß sie nämlich Histamin stark und Antihistaminika überhaupt nicht adsorbieren?

Zur Frage der Histamin- und Antihistaminwirkung auf den Magensaftfluß hat Linde[19] schöne Versuche mit Tween 20 angestellt. Tween 20 ist ein Benetzungsmittel, ein Polyoxyäthylenderivat des Sorbitanmonolaurats, bei Zimmertemperatur eine ölige, gelbe Flüssigkeit, wasserlöslich und von geringer Toxizität; am Menschen können 2—8 cm³ der 5%igen Lösung i.v. ohne Nebenerscheinungen gespritzt werden (Krantz, Carr, Bird u. Cook[20]). Linde[19] ging von der Tatsache aus, daß Tween 20 nach intravenöser Injektion am Hunde neben einer Urtikaria gesteigerte Magensaftproduktion hervorruft; Benadryl verhindert diesen Effekt, obwohl es sonst die Magensaftsekretion nach Histamin nicht beeinflußt. Andere Autoren nahmen deshalb an, daß Tween 20 Histamin in Freiheit setzt, und an diesem Mechanismus, nicht am Histamin selbst, sollte Benadryl angreifen. Linde gelangte auf folgende Weise zu einer anderen Erklärung: Narkotisierte Hunde erhielten eine Dauerinfusion von Tween 20 (1 mg/kg/h); nach 20—30 min setzte der Magensaftfluß ein und klang innerhalb einer Stunde wieder ab. Nun wurde bei fortlaufender Tweengabe mit einer Histamininfusion begonnen. Wenn die Magensaftproduktion einen konstanten Wert erreicht hatte, folgte eine Gabe von 0,1 g „Antasten" (2-N-Phenylbenzyl-aminomethyl-imidazolin) intravenös. In allen Versuchen sank der Magensaftfluß sofort um 35—50% ab und stieg nach 30 min auf den ursprünglichen Wert; eine zweite Antastengabe hatte denselben Effekt. Auch bei gleichzeitiger Anwendung von Tween 20 und Reizung der Vagusnerven wirkte Antasten wie beschrieben. Da ohne vorhergehende Behandlung mit Tween 20 „Antasten" die Magensaftproduktion weder nach Histamin noch nach Vagusreizung verminderte, schloß Linde, daß das Antihistaminikum nach Tweenbehandlung die Histaminwirkung in den magensaftbereitenden Zellen selbst blockiert.

Von diesen Versuchen ausgehend wollten wir prüfen, ob Tween 20 in unserem Modellversuch die Kaolinoberfläche so beeinflussen kann, daß diese nunmehr nicht nur Histamin sondern auch Neo-Antergan adsorbiert, so daß nun eine Verdrängung des Histamins möglich würde. Tween 20 ist selbst sehr oberflächenaktiv; noch stark verdünnte Lösungen schäumen deutlich. Die Adsorptionsversuche enthielten nun in den Leerversuchen noch 1,0 cm³ Aqua dest., das dann durch 1,0 cm³ einer 0,1%igen Tweenlösung ersetzt wurde. Am Kohlemodell zeigte sich, daß das oberflächenaktive Tween 20 wie zu erwarten Histamin von der Kohlenoberfläche verdrängt; wir prüften deshalb, ob Tween 20 ein Histaminantagonist sei. Die Endkonzentration an Tween 20 von

$1 \cdot 10^{-5}$ (Luftdurchperlung verursacht Schäumen der Badeflüssigkeit!) führte nur zu einer sehr geringen Abschwächung der Histaminwirkung (Histaminkonzentration: $8{,}5 \cdot 10^{-7}$), die erst bei der 10fachen Tweenkonzentration $1 \cdot 10^{-4}$ deutlich wurde (Abschwächung um 62%). Obwohl Tween 20 Histamin etwa ebenso stark von der Kohlenoberfläche verdrängt wie Pyribenzamin, ist es doch wohl ein schwächeres Antihistaminikum als Antistin; während bei Meier und Bucher[21] die Kontraktur nach einer Histaminkonzentration von $5 \cdot 10^{-8}$ von Antistin $1 \cdot 10^{-7}$ völlig gelöst wird, konnte in unserem Falle Tween 20 in der 1000fachen Konzentration $1 \cdot 10^{-4}$ die nur 17fache Histaminkonzentration $3 \cdot 10^{-7}$ nicht unterdrücken; deshalb glauben wir auch ohne genaue Auswertung annehmen zu dürfen, daß Tween 20 bei dieser Versuchsanordnung ein schwächeres Antihistaminikum ist als Antistin.

Auf deduktive Weise konnten wir also an Hand eines Adsorptions-Modellversuches eine bisher nicht bekannte Antihistaminwirkung auffinden. Dieser Versuch ist auch noch deshalb wichtig, weil er zeigt, daß die adsorptive Verdrängung nur eine Teilursache der spezifischen Antihistaminwirkung sein kann: Trotz der erheblichen Oberflächenaktivität des Tween 20 und seiner deutlichen Fähigkeit zur adsorptiven Verdrängung im Modellversuch ist es nur ein relativ schwaches Antihistaminikum (am isolierten Meerschweinchenileum!), das höchstwahrscheinlich sogar im Körper des Hundes Histamin in Freiheit setzt (siehe Krantz[20]). Auf die interessante Frage, ob ein Stoff gleichzeitig Histamin in Freiheit setzen und histaminantagonistisch wirken kann, kommen wir in der Diskussion zu sprechen.

Der Versuch, die Kaolinoberfläche durch Tween 20 so zu beeinflussen, daß außer Histamin nun auch Neo-Antergan adsorbiert wird, fiel negativ aus: Tween 20 verdrängte nur sehr wenig Histamin von der Kaolinoberfläche, offenbar wird es selbst kaum adsorbiert; Neo-Antergan war ebenso wie in den Versuchen ohne Tween 20 in der Badeflüssigkeit nachweisbar. Man muß wohl von einem „Adsorptionsvermittler" erwarten, daß er selbst erst einmal adsorbiert wird, bevor er die Adsorption vermitteln kann.

Auch dies ist jedoch nur ein Modellversuch an einer anorganischen Oberfläche und damit nur sehr wenig verbindlich; kennen wir doch die Oberflächeneigenschaften der „Rezeptoren" in den Zellen in keiner Weise. Wir möchten jedoch gerade deshalb mit aller gebotenen Zurückhaltung noch einmal die Hypothese äußern, die Rezeptoren in den HCl-produzierenden Zellen der Magenschleimhaut könnten sich so ähnlich verhalten wie Kaolin, das Histamin stark, Neo-Antergan nicht adsorbiert. Dann wäre es auch möglich, daß an den entscheidenden, diesmal organischen Oberflächen in jenen Zellen Tween 20 in Lindes[19] Versuchen die Adsorption des Antihistaminikums vermittelte.

Diskussion.

Bei der Deutung dieser Ergebnisse sind Vorsicht und die kritische Denkweise, die Heubner[1] in der eingangs erwähnten Arbeit zeigte,

geboten. So ist es völlig unwahrscheinlich, daß alle pharmakologischen Stoffe mit Oberflächenaktivität — dazu gehören Narkotika, Alkaloide, Terpenderivate usw. — Antihistaminika sind, obschon man mit diesen Stoffen, etwa den Urethanen, Histamin wird von der Kohlenoberfläche verdrängen können. Andererseits sind jedoch bisher mindestens 40 bis 50 Antihistaminika von zum Teil recht verschiedenem chemischen Bau bekannt geworden, neuerdings hat sich sogar die Gerbsäure hinzugesellt (Gyüre und Kovaks[22]), der man kraft ihrer chemischen Struktur wohl Oberflächenaktivität zutrauen darf. Wesentlicher ist die Frage, ob es ein Antihistaminikum gibt, das zwar oberflächeninaktiv ist, aber trotzdem etwa die Stärke der bereits bekannten Antihistaminika erreicht, und den üblichen Forderungen der Spezifität standhält. Eine Parallele gibt es jedenfalls bei den Narkotika, zu denen sicher auch $MgSO_4$ zu rechnen ist, das als Elektrolyt oberflächeninaktiv sein und damit mindestens aus dem Rahmen der Warburgschen Adsorptionstheorie (wie auch aus der Lipoidtheorie) der Narkose fallen dürfte. — Aus unseren Versuchen geht jedenfalls hervor, daß die untersuchten Antihistaminika oberflächenaktiv, Histamin oberflächeninaktiv sind, ferner daß im Modellversuch alle Antihistaminika Histamin von der Kohlenoberfläche verdrängen.

Dabei ließen sich die Antihistaminika entsprechend ihrer Wirksamkeit in folgender aufsteigender Reihe ordnen: Antistin, Pyribenzamin, Neo-Antergan, Synopen, Thephorin. Stimmt diese Reihenfolge mit der Wirksamkeit der Antihistaminika in vivo überein?

Dabei ergibt sich die bekannte und von zahlreichen Autoren hervorgehobene Schwierigkeit, daß die einzelnen Antihistaminika an verschiedenen Versuchsobjekten verschieden stark wirken. Bei Brett[23] fanden wir die untenstehende Tabelle nach unveröffentlichten Versuchen von Domenjoz über die 50%ige Schutzwirkung gegen 0,5 mg/kg Histamin i.V. (D.L. 100) — wohl am Meerschweinchen —, wobei die Antihistaminika entsprechend ihrer wirksamen Dosis geordnet wurden. Leider fehlt das Thephorin, aber die anderen Substanzen staffeln sich nach ihrer Wirksamkeit genau in der gleichen Reihenfolge wie auch in unseren theoretischen Versuchen. Für das Thephorin können wir leider nur Anhaltspunkte anführen, da wir keine Arbeit mit klaren Angaben über die Wirkungsstärke des Thephorins gegenüber Histamin im Vergleich zu anderen Antihistaminika fanden. Halpern und Briot[24] zeigten, daß das Eieralbumin-Ödem der Ratte von 5,0 mg/100 g Thephorin und 10,0 mg/100 g Neo-Antergan verhindert wird, hinsichtlich der Lähmung motorischer Nerven fanden Klupp und Mlczoch[25] folgende relative Wirksamkeiten: Novocain 1,0, Neo-Antergan 2,18, Thephorin 14,4. Es scheint uns nicht unmöglich, daß Thephorin ein stärkeres Antihistaminicum als Neo-Antergan ist.

	mg/kg		mg/kg
1. Synopen	0,0022	5. Antergan	0,048
2. Neo-Antergan	0,0065	6. Benadryl	0,088
3. Pyribenzamin	0,020	7. Antistin	0,097
4. Phenergan	0,043	8. Hetramin	0,13

So können wir denn sagen: *Bei gewissen biologischen Versuchsobjekten geht die Wirkungsstärke der Antihistaminika mit ihrer Oberflächenaktivität parallel.*

Bei der Betrachtung der Überschneidungen z. B. der Antistin- und Antistin-Histaminkurve bei p_H 9,0 in den Stalagmometerkurven der Abb. 2 fällt auf, daß statt des zu erwartenden vermindernden Einflusses des Histamins auf die Oberflächenspannungserniedrigung dieser Einfluß fehlt, ja daß sogar die Oberflächenspannung der Antistin-Histaminmischung bei diesem p_H niedriger ist als bei Antistin allein. Dies erinnert an Befunde im Rahmen unserer Blutgerinnungsversuche[3], bei denen allgemein zwar Histamin und Antistin entgegengesetzt wirkten (Antistin gerinnungsverzögernd, Histamin gerinnungsbeschleunigend) und bei gleichzeitiger Anwendung sich gegenseitig abschwächten, bei denen jedoch bei bestimmten Bedingungen in vivo und in vitro das eigentlich verkürzend wirkende Histamin die gerinnungsverzögernde Wirkung des Antistins wider Erwarten verstärkte. Das gleiche zeigte sich bei unseren Erfrierungsversuchen (Zetler[29]): Friert man Kaninchenohren in einer Fläche von 8 cm^2 mit CO_2-Schnee (1,5 min lang), so verkürzt sich die Blutgerinnungszeit erheblich (um 63%) in Abhängigkeit von der Dauer der Gefrierung, bei Antistinvorbehandlung (45 mg/kg) tritt statt dessen eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit ein (um 16%). Wider Erwarten verlängert sich aber bei stärkerem Frieren (2,5 min) trotz gleich dosierter Antistinvorbehandlung die Blutgerinnungszeit noch deutlicher, nämlich um etwa 35%. Dazu schrieben wir[3]: „Dagegen muß die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß Antistin und Histamin sich bei einem bestimmten günstigen Mengenverhältnis etwa unter Mitwirkung eines Plasmabestandteiles zu einer Kombinationsverbindung vereinigen, die auf die Blutgerinnung verzögernd einwirkt." Diese Deutung kann angesichts der komplizierten und schwer durchschaubaren Verhältnisse bei der Blutgerinnung vielleicht gewagt werden, doch möchten wir keine chemische Verbindung zwischen Antihistaminikum und Histamin postulieren, um den erwähnten Effekt im Rahmen der Stalagmometrie zu erklären. Dagegen sprechen auch die Adsorptionsversuche: Bevor das Gemisch aus Histamin und Antihistamin mit dem Adsorbens geschüttelt wurde, befanden sich ja schon beide Stoffe in Lösung und hatten Gelegenheit, eine Verbindung miteinander einzugehen; eine Verdrängungserscheinung wäre dann allerdings nicht mehr möglich gewesen. Bei den Blutgerinnungsversuchen dachten wir an bestimmte Mengenverhältnisse als auslösende Ursache des Phänomens, bei den Versuchen der Abb. 2 blieb jedoch das Mengenverhältnis konstant, es änderte sich nur der p_H-Wert. — Wegen dieser Schwierigkeiten verzichten wir auf den Versuch einer Deutung.

Es sei aber erlaubt, auf andere, hierher gehörende Versuchsergebnisse hinzuweisen, um damit andere Beobachter zur Mitteilung ähnlicher Befunde anzuregen,

die vielleicht zur Klärung des Mechanismus der Antihistaminwirkung beitragen können. In unveröffentlichten Versuchen über den Einfluß der Antihistaminika auf die körpertemperatursenkende Wirkung des Histamins stellten wir fest, daß — in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren — die Antihistaminika die Körpertemperatur des Meerschweinchens senken, daß sie jedoch in Dosen, die die Körpertemperatur nicht beeinflussen (2,7 mg/kg subkutan), in Kombination mit temperatursenkenden Histamindosen (2,0 mg/kg subkutan) vorübergehend die Körpertemperatur steigern; entsprechend der Stärke dieser Erscheinung lassen sich die untersuchten Antihistaminica wie folgt ordnen: Antistin < Pyribenzamin und Synopen < Thephorin < Neo-Antergan. Diese Abstufung deutet an, daß die geschilderte Wirkung irgendwie an die typische Antihistamineigenschaft dieser Stoffe geknüpft ist. Individuelle Faktoren spielen eine Rolle, so zeigten z. B. bei Thephorin + Histamin 3 Tiere von 10, bei Neo-Antergan + Histamin 1 Tier von 9 keine Temperatursteigerung. Landis und Krop* untersuchten die fungistatische Wirkung der Antihistaminika auf Trichophyton mentagrophytes und fanden, daß diese Antihistaminwirkung durch Histamin antagonistisch beeinflußt wurde. Bei den niedrigsten Histaminkonzentrationen ihrer Versuche zeigte sich jedoch eine paradoxe Erscheinung, die von den Autoren nicht beachtet wurde: Die größte noch fungistatisch wirksame Verdünnung war für Benadryl 1:12800, für Pyribenzamin 1:6400, nach dem Zusatz von 1 mg% Histamin jedoch wider Erwarten für Benadryl 1:25600 und für Pyribenzamin 1:12800; trotz der Anwesenheit von Histamin verdoppelte sich also die fungistatische Wirksamkeit dieser Antihistaminika, die durch höhere Histamindosen abgeschwächt wurde. Die Deutung ist schwierig, da bei Thenylen, Thephorin, Neo-Antergan und Diatrin dieses Paradoxon in diesem Dosenbereich fehlte, während es bei 10%iger Undecylensäure vorhanden war (ohne Histamin 1:25600, mit 1 mg% Histamin 1:51200), obwohl dieser Stoff durch Histamin in seiner fungistatischen Wirksamkeit nicht wie die Antihistaminika gehemmt wurde.

Im Sinne Heubners[1] und gegen Traube[2] spricht auch die Tatsache, daß Histamin als biologisch äußerst wirksame Substanz oberflächeninaktiv ist. Nach Traube müßte Histamin demnach pharmakologisch ähnlich wenig wirksam sein wie Glukose.

Tween 20 konnte in unseren Versuchen Histamin von der Kohlenoberfläche verdrängen und erwies sich am isolierten Meerschweinchendarm als Antihistaminikum. Dies ist erstaunlich, da Krantz und Mitarbeiter[20] beim Hund nach intravenöser Gabe von Tween 20 Blutdrucksenkung und Urtikaria, ferner im Blute solcher Hunde eine histaminähnliche Substanz gefunden hatten; nach Linde[19] verursacht Tween 20 Magensaftfluß. Alle diese Wirkungen ließen sich durch Benadryl verhindern, so daß man annehmen darf, Tween 20 setze im Körper wenigstens des Hundes Histamin in Freiheit.

Daß Antihistaminika Histamin freisetzen können, ist seit Pellerat und Murat[26] bekannt; nach diesen Autoren erhöht sich nach Antihistamingabe der Bluthistamingehalt, allerdings soll dieses Histamin unwirksam sein. Döscher-holmen[27] fand wider Erwarten, daß die HCl-Produktion der Magenschleimhaut nach Ewaldscher Probemahlzeit oder Histamininjektion durch die Vorbehandlung mit Antergan anstieg; er diskutierte deshalb, ob Antihistaminika im Körper

* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **76**, 538 (1951).

Histamin freisetzen. Wenn auch die Behauptung, die Antihistaminika setzten im Körper Histamin in Freiheit, noch durch weiteres experimentelles Material gestützt werden muß, so ist doch ein solcher „Nebeneffekt" der Antihistaminika nach unseren Versuchen zu fordern.

Zunächst ergibt sich noch eine weitere Folgerung: Alle Organe und besonders die Haut enthalten bekanntlich nicht unerhebliche Histaminmengen, die jedoch im Normalzustand nicht in Erscheinung treten. Dies kann einmal daran liegen, daß das Histamin hier in „unwirksamer, maskierter Form" vorliegt, zum anderen, daß es an Oberflächen adsorbiert ist, die etwa nur Bedeutung als Stapelungsort und nicht als Rezeptor besitzen. Nimmt man nun an, daß oberflächenaktive Stoffe wie die Antihistaminika oder Tween 20 Histamin ausschließlich durch adsorptive Verdrängung in Freiheit setzen, so muß Histamin als normaler Organbestandteil auch schon an Oberflächen adsorbiert sein; es käme dann also die zweite der eben zitierten Speicherungsmöglichkeiten in Frage. Demnach muß es also so sein, daß Histamin physiologischerweise in den Organen an Oberflächen mit indifferenter Speicherungsfunktion adsorbiert ist, von denen es pathologische Prozesse oder oberflächenaktive Stoffe in Freiheit setzen*, wodurch es sich jetzt erst differenten Oberflächen, den oft erwähnten „Rezeptoren" zuwenden kann. Dies geht natürlich nur dann, wenn der oberflächenaktive Stoff, der das Histamin „in Freiheit setzte", nicht alle Oberflächen, also auch die der differenten Rezeptoren besetzt. Dies tun jedoch alle guten Antihistaminika mit einer Ausnahme, nämlich der Rezeptoren, durch deren Blockierung die HCl-Produktion der Magenschleimhaut nach Histamin gehemmt werden könnte (diese Rezeptoren-Oberflächen müssen sich also irgendwie anders, etwa kaolinähnlich verhalten). Somit kann eine etwaige Histaminfreisetzung durch die Antihistaminika nur ermittelt werden an Hand biochemischer Blut- oder Organanalysen (Pellerat und Murat[26]) oder durch die Beobachtung der Magensaftverhältnisse (siehe oben Döscherholmen[27]).

Bei den bekannten tiefgreifenden biochemischen Unterschieden zwischen den einzelnen Organen sollte man annehmen, daß es Antihistaminika geben müsse, die gewissermaßen „spezifischer" nur von den Rezeptoren gewisser Organe adsorbiert werden und nicht so wie die übrigen Antihistaminika von allen Rezeptoren mit Ausnahme von denen des Magens. Dies ist in der Tat der Fall: Loew[28] untersuchte α-Naphthylmethyl-alkyl-β-chloräthylamin und β-(2-Biphenyloxy)äthyl-alkyl-β-chloräthylamin und fand, daß die niederen Alkyl-Homologen dieser Substanzen gegen Histaminbronchospasmus und gegen Histaminblutdrucksenkung wirkten, während die höheren Homologen gegenüber dem Histaminbrochospasmus zwar versagten, gegen die Histaminblutdrucksenkung jedoch wirksam waren. Auch Tween 20 dürfte zu solchen Substanzen gehören: Am Meerschweinchenileum wirkt es wie ein Anti-

* Diese Vorstellung könnte auch als Arbeitshypothese zur Erklärung neuer Befunde dienen, wonach Morphin, Codein, Diamorphin, Papaverin, Pethidin, Thebain und Apomorphin Histamin freisetzen (Nasmyth u. Steward: J. Physiol. 111, 19P. 15/4. 1950; Feldberg u. Paton: J. Physiol. 111, 19P. 15/4. 1950); sind doch nach Traube u. Onodera (zit. n. Herčick[16]) die Alkaloide der Morphinreihe oberflächenaktiv, wobei die Oberflächenaktivität mit der pharmakologischen Wirkung zunimmt, so daß Traube die Reihe: Morphin, Codein, Dionin, Heroin, Peronin aufstellen konnte.

histaminikum, in vivo setzt es am Hund Histamin in Freiheit, ohne gleichzeitig als Antihistaminikum zu wirken (Tween 20 ist bisher nur sehr wenig untersucht worden; vielleicht lassen sich doch noch unter den zahlreichen biologischen Möglichkeiten in vivo weitere Antihistaminwirkungen dieses Stoffes auffinden). Zum Schluß dieser Überlegung möchten wir darauf hinweisen, daß zwischen Loews[28] Versuchen und den Verhältnissen bei Tween 20 eine Gemeinsamkeit zu bestehen scheint, da bei Loew nur die höheren Alkyl-Homologen diese Spezifisierung ihrer Rezeptor-Affinität zeigten, während Tween 20 gleichfalls ein höheres Alkylderivat ist; vielleicht bringen auf diesem Gebiete Versuche mit höheren Alkyl-Homologen bereits bekannter Antihistaminika weiter.

Schließlich müssen wir noch auf Buchers[5] Versuche eingehen. Er wollte am isolierten Meerschweinchendarm feststellen, ob die Wirkung von Pyribenzamin sich durch histaminhaltige Tyrodelösung rascher auswaschen läßt als durch normale Tyrodelösung allein. Er erwartete eine Verdrängung des Pyribenzamins durch Histamin, kam aber zu einem negativen Ergebnis und schloß daraus, daß der Antihistaminmechanismus nicht auf einer adsorptiven Verdrängung des Histamins durch die Antihistaminika beruhen könne. Unseres Erachtens kann aus diesen Versuchen jedoch nur geschlossen werden, daß Histamin Pyribenzamin nicht verdrängt, und nicht das Gegenteil. Buchers Versuche konnten auch gar kein anderes Ergebnis haben, denn es ist aussichtslos, einen oberflächenaktiven Stoff durch einen oberflächeninaktiven von einer Oberfläche verdrängen zu wollen, es sei denn, man wendet undiskutabel hohe Konzentrationen an oder man eluiert mit dem Lösungsmittel des inaktiven Stoffes. Somit stützen diese Versuche Buchers auf indirekte Weise unsere Hypothese.

Zusammenfassung.

1. Stalagmometrische Messungen zeigen, daß Histamin oberflächeninaktiv und die Antihistaminika Antistin, Pyribenzamin, Neo-Antergan, Synopen und Thephorin oberflächenaktiv sind.

2. Es gelingt deshalb, Histamin durch diese Antihistaminika von der Oberfläche der Tierkohle zu verdrängen.

3. Entsprechend ihrer Wirkungsstärke staffeln sich die untersuchten Antihistaminika in vivo, nach ihrer Oberflächenaktivität und nach ihrem Verdrängungseffekt im Modellversuch etwa in der gleichen Reihenfolge: Antistin, Pyribenzamin, Neo-Antergan, Synopen, Thephorin.

4. Der adsorptiven Verdrängung des Histamins durch die Antihistaminika ist eine gewisse Bedeutung für das Zustandekommen der spezifischen Antihistaminwirkung einzuräumen.

Literatur.

[1] Heubner, W.: Biochem. Z. **101**, 54 (1920). — [2] Traube, I.: Biochem. Z. **98**, 177 (1919). — [3] Zetler, G.: Dieses Archiv **213**, 18 (1951). — Klin. Wschr. **29**, 255 (1951). — [4] Rona, P., u. K. v. Toth: Biochem. Z. **64**, 288 (1914). — [5] Bucher, K.: Helvet. physiol. Acta **7**, 315 (1949). — [6] Schild, H. O.: Brit. J. Pharmacol. **2**, 189 (1947). — [7] Wells, I. A., H. C. Morris, H. B. Bull u. C. A. Dragstedt: J. of Pharmacol. **85**, 122 (1945). — [8] Lehmann, G., L. O. Randall u. E. Hagan: Arch. internat. Pharmacodynamie **78**, 253 (1949). — [9] Wilbrandt, W.: Helvet. physiol. Acta **8**, 399 (1950). — [10] Clark, A. I., u. I. Raventos: J. of exper. Physiol. **26**, 375 (1937). — [11] Gaddum, I. H.: J. of Physiol. **89**, 7P (1937). — [12] Winterstein, H.: „Die Narkose." Berlin 1926. — [13] Rona, P.: „Praktikum der Physiologischen Chemie." II. Teil: Blut, Harn. Berlin 1929. — [14] Höber, R.: „Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe." Leipzig 1926. — [15] Carson, L. E., u. Ch. C. Campbell: Science (Lancaster, Pa.) **111**, 689 (1950). — [16] Herčik, F.: „Oberflächenspannung in der Biologie und Medizin." Dresden und Leipzig 1934. — [17] Rona, P., u. L. Michaelis: Biochem. Z. **16**, 489 (1909). — [18] Michaelis, L., u. M. Ehrenreich: Biochem. Z. **10**, 283 (1908). — [19] Linde, S.: Experienta (Basel) **5**, 209 (1949). — [20] Krantz, J. C., C. J. Carr, J. G. Bird u. S. Cook: J. of Pharmacol. **93**, 188 (1948). — [21] Meier, R., u. K. Bucher: Fortschr. Allergielehre **2**, 290 (1949). — [22] Gyürk, D., u. A. Kovaks: Schweiz. med. Wschr. **1949**, 624. — [23] Brett, R.: Hautarzt **1**, 2 (1950). — [24] Halpern, B. N., u. M. Briot: Arch. internat. Pharmacodynamie **82**, 247 (1950). — [25] Klupp, H., u. F. Mlczoch: Dieses Archiv **209**, 87 (1950). — [26] Pellerat, J., u. M. Murat: C. r. Soc. Biol. Paris **140**, 197 (1946). — [27] Döscherholmen, A.: Acta med. scand. (Stockh.) **315**, 195 (1949). — [28] Loew, E. R.: Ann. New York Acad. Sci. **50**, 1142 (1950). — [29] Zetler, G.: Naturwiss. **38**, 286 (1951).

Dr. med. Gerhard Zetler, Pharmakologisches Institut der Universität Kiel, Hospitalstraße 20.